

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI



**HÉMISYNTHÈSE ET ÉVALUATION BIOLOGIQUE
DE DIHYDROCHALCONES CINNAMYLÉES, BENZYLÉES
ET PRENYLÉES À PARTIR DE PRÉCURSEURS BIOSOURCÉS**

par Anne Ardaillou

B. Sc. (CHIMIE)

**MÉMOIRE PRÉSENTÉ
À L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN RESSOURCES RENOUVELABLES**

2021

RÉSUMÉ

Il existe dans la nature plusieurs familles de dihydrochalcones *C*-alkylées qui montrent des activités biologiques variées en fonction de la structure de la chaîne d'alkylation. Parmi celles-ci, il est possible de retrouver les balsacones, les uvarétines et les érioschalcones. Afin d'accéder à plusieurs analogues de chacune de ces familles, une approche synthétique impliquant une alkylation catalytique de Friedel-Crafts a été mise en place. Cette dernière a fait intervenir comme précurseurs biosourcés l'aglycone de la néohespéridine dihydrochalcone ainsi que des alcools cinnamiques, benzyliques et isopréniliques pour obtenir respectivement des composés des familles précédemment citées. L'objectif principal de ce projet était de synthétiser des analogues de chacun de ces produits naturels afin d'évaluer leurs activités antibactériennes et cytotoxiques.

La néohespéridine dihydrochalcone déglycosylée a été obtenue après hydrolyse de la néohespéridine dihydrochalcone commerciale. Certains des alcools ont été synthétisés à partir de leur acide correspondant après une estérification suivie d'une réduction. Les dérivés synthétisés ont permis d'obtenir des renseignements sur la relation entre la structure et l'activité de ces molécules. Les hémisynthèses effectuées ont permis d'obtenir des rendements allant de 29 à 72 % pour la cinnamylation, de 36 à 74 % pour la benzylation et de 31 à 48 % pour les prénylation. Les activités antibactériennes des dérivés ont été évaluées *in vitro* contre une souche de bactérie à Gram-négatif (*Escherichia. coli*) et une souche de bactérie à Gram-positif (*Staphylococcus. aureus*). Ces résultats sont exprimés comme la concentration minimale inhibant 90 % de la croissance bactérienne (CMI₉₀) en utilisant la gentamicine comme contrôle positif. La cytotoxicité des dérivés a aussi été évaluée contre deux lignées de cellules humaines cancéreuses (A-549 et DLD-1) et une lignée de cellules humaines saines (WS-1). La cytotoxicité des composés a été rapportée en concentration qui inhibe 50 % de la croissance cellulaire (IC₅₀). L'étoposide a été utilisé comme contrôle positif.

Les résultats obtenus montrent que les dérivés cinnamylés, benzylés et géranylés sont modérément cytotoxiques sur les trois lignées cellulaires testées avec des IC_{50} variant entre 21 et 64 μM . Cependant, les dérivés prénylés sont inactifs avec des IC_{50} supérieures à 100 μM . D'autre part, les dérivés cinnamylés sont significativement actifs contre *S. aureus* avec des CMI_{90} allant de 2,6 à 11,6 μM et inactives contre *E. coli*. Le composé le plus actif est l'analogue chloré avec une CMI_{90} de 2,6 μM . Les dérivés benzylés ne sont pas actifs contre *E. coli*. Cependant, ils sont tous actifs contre *S. aureus*. Une fois de plus, le dérivé chloré était le plus actif avec une CMI_{90} de 2,3 μM . Pour finir, les dérivés *O* et *C*-prénylés sont inactifs contre *S. aureus* et *E. coli* tandis que le dérivé *C*-géranylé est actif contre *S. aureus* avec une CMI_{90} de 2,5 μM .

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	iii
TABLE DES MATIÈRES	v
LISTE DES TABLEAUX	vii
LISTE DES ANNEXES	x
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	xi
REMERCIEMENTS.....	xiii
INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1	4
REVUE DE LA LITTÉRATURE	4
1.1 GÉNÉRALITÉS.....	5
1.2 LES DIHYDROCHALCONES, LA NÉOHESPÉRIDINE	6
1.3 LES BALSACONES	9
1.4 LES UVARÉTINES.....	13
1.5 LES ÉRIOCHALCONES	15
1.6 HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS DE RECHERCHE	17
CHAPITRE 2	19
RÉSULTATS ET DISCUSSIONS	19
2.1 PRÉPARATION DES PRÉCURSEURS.....	20
2.1.1 PRÉPARATION DE LA NÉOHESPÉRIDINE DÉGLYCOSYLÉE	20
2.1.2 PRÉPARATION DES ALCOOLS	20
2.2 CINNAMYLATION.....	22
2.3 BENZYLATION	24
2.4 PRÉNYLATION ET GÉRANYLATION	27
2.5 ACTIVITÉS BIOLOGIQUES	31

2.5.1	ACTIVITÉ CYTOTOXYQUE	31
2.5.2	ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE	33
CHAPITRE 3		37
PARTIE EXPERIMENTALE		37
3.1	STRATEGIE DE SYNTHÈSE	38
3.2	CIBLES MOLÉCULAIRES	39
3.3	MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	39
3.3.1	REMARQUES GÉNÉRALES.....	39
3.3.2	CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES	39
3.3.3	INSTRUMENTATION.....	40
3.3.4	LOGICIELS	41
3.3.5	MÉTHODES D'ANALYSES ET DE SÉPARATIONS.....	41
3.4	ÉVALUATION DES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES	41
3.4.1	ACTIVITÉS CYTOTOXIQUES	42
3.4.2	ACTIVITÉS ANTIBACTÉRIENNES.....	43
3.5	PRÉPARATION DES COMPOSÉS SYNTHÉTISÉS	43
CONCLUSION.....		59
BIBLIOGRAPHIE		62
ANNEXES		65
SPECTRES RMN		65

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES BALSACONES A (6), B (9) ET C (10).CONTRE <i>S. AUREUS</i> ET UNE SOUCHE DE SARM PUIS ACTIVITE CYTOTOXIQUE CONTRE UNE LIGNEE DE CELLULES DE PEAU (WS-1).....	10
TABLEAU 2. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES ERIOSCHALCONES SUR DES SOUCHES DE BACTERIES A GRAM NEGATIF (<i>BACILLUS MEGATERIUM</i> ET <i>ESCHERICHIA COLI</i>).....	16
TABLEAU 3. CINNAMYLATION CATALYTIQUE DE LA NEOHESPERIDINE DIHYDROCHALCONE DEGLYCOSYLEE (5).....	23
TABLEAU 4. BENZYLATION CATALYTIQUE DE LA NEOHESPERIDINE DIHYDROCHALCONE DEGLYCOSYLEE (5).....	25
TABLEAU 5. PRENYLATION CATALYTIQUE DE LA NEOHESPERIDINE DIHYDROCHALCONE DEGLYCOSYLEE (5).....	27
TABLEAU 6. GERANYLATION CATALYTIQUE DE LA NEOHESPERIDINE DIHYDROCHALCONE DEGLYCOSYLEE (5).....	29
TABLEAU 7. ACTIVITE CYTOTOXIQUE (IC ₅₀ EN µM) MESUREE SUR A-549, DLD-1 ET WS-1 AVEC COMME CONTROLE POSITIF L'ETOPOSIDE SELON LE TEST DE HOECHST	32
TABLEAU 8. ACTIVITES ANTIBACTERIENNES (CMI ₉₀ EN µM) MESUREES SUR <i>E. COLI</i> ET <i>S. AUREUS</i> AVEC COMME CONTROLE POSITIF LA GENTAMICINE	34

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1. STRUCTURE GENERALE DES DIHYDROCHALCONES (1).....	6
FIGURE 2. STRUCTURE DE LA NEOHESPERIDINE DIHYDROCHALCONE (2) ET DE LA NEOHESPERIDINE (3).	7
FIGURE 3. SYNTHÈSE DE LA NEOHESPERIDINE DIHYDROCHALCONE DEGLYCOSYLÉE (5) A PARTIR DE LA NEOHESPERIDINE (3) A. CLIVAGE DU CYCLE PYRANIQUE ; B. HYDROGENATION; C. HYDROLYSE.	8
FIGURE 4. STRUCTURE DE LA BALSACONE A (6), DE L'UVARETINE (7) ET DE L'ERIOSCHALCONE A (8).	9
FIGURE 5. STRUCTURE DES BALSACONES A (6), B (9) ET C (10).	9
FIGURE 6. SYNTHÈSE DES BALSACONES B (9) ET C (10): A. APTS, MEOH, 92 % ; B. TBDMSCL, TEA, DCM ANHYDRE, 99 % ; C. DIBAL-H, DCM ANHYDRE, 99 % ; D. PBR ₃ , DIETHYLETHER, 96 % ; E. MOMCL, DIPEA, DCM, 71 % ; F. 1) BENZALDEHYDE, KOH, MEOH, 95 % ; 2) P- METHOXYBENZALDEHYDE, KOH, MEOH, 84 %; G. 1) HCL, MEOH, 80 % ; 2) HCL, MEOH, 82 % ; H. 1) H ₂ (GAZ), PDC (CAT.), MEOH, 77 % ; 2) H ₂ (GAZ), PD-C (CAT.), MEOH, 61 % ; I. NAH, THF, 50 % ; NAH, THF, 45 % ; J. TBAF, TFA, 55 %.	11
FIGURE 7. MÉCANISME DE RÉACTION DE L'ALKYLATION DE FRIEDEL-CRAFTS POUR L'HEMISYNTHESE DES BALSACONES.	13
FIGURE 8. STRUCTURE DE L'UVARETINE (7), L'ISO-UVARETINE (28) ET LA DI-UVARETINE (29) ET LEURS ACTIVITÉS CYTOTOXIQUES (IC ₅₀ EN µM) CONTRE UNE LIGNEE DE CELLULES PROMYELOCYTAIRES HUMAINES (HL-60).	14
FIGURE 9. SYNTHÈSE TOTALE DE L'UVARETINE (7) SELON LE GROUPE DE DALLMAN ³¹ A) BF ₃ ·ET ₂ O, AC ₂ O, RT, 88 % ; B) MOMCL, DIPEA, DCM, 79 % ; C) 1) ME ₂ SO ₄ , K ₂ CO ₃ , 2) PHCHO, KOH, H ₂ O, 73 % ; D) K ₂ CO ₃ , DMF, 95 % ; E) NABH ₄ , MEOH, 72 % F) ; 1) BF ₃ ·ET ₂ O, DIOXANE, PD(PPh ₃) ₄ , K ₂ CO ₃ , MEOH, 51 % 2) MEOH HCL, 65 % ; G) PD/C, H ₂ , MEOH, 90%.	15
FIGURE 10. STRUCTURE DES ERIOSCHALCONES A (8) ET B (38).	16
FIGURE 11. STRUCTURE GÉNÉRALE DES COMPOSÉS CIBLES PAR L'APPROCHE DE SYNTHÈSE A PARTIR D'UN PRÉCURSEUR COMMUN.	18
FIGURE 12. SYNTHÈSE DE LA NHDC DEGLYCOSYLÉE (5) A PARTIR DE LA NHDC COMMERCIALE (2).	20
FIGURE 13. STRUCTURES DES ALCOOLS CINNAMIQUES, BENZyliQUES ET PRENYLIQUES UTILISÉS.	21
FIGURE 14. SYNTHÈSE DES ALCOOLS ENGAGÉS DANS L'HEMISYNTHESE A PARTIR DE LEUR ACIDE CORRESPONDANT.	22

FIGURE 15. MECANISME REACTIONNEL DE LA REACTION DE RITTER.....	26
FIGURE 16 : STRATEGIE DE SYNTHÈSE (EXEMPLE POUR LES ALCOOLS CINNAMIQUES).	38

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, MEOD ; COMPOSE (5).....	66
ANNEXE 2 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, MEOD ; COMPOSE (39)	67
ANNEXE 3 : SPECTRE ^{13}C , 101 MHZ, MEOD ; COMPOSE (39).....	68
ANNEXE 4 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, MEOD ; COMPOSE (40).....	69
ANNEXE 5 : SPECTRE ^{13}C , 101 MHZ, MEOD ; COMPOSE (40).....	70
ANNEXE 6 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, MEOD ; COMPOSE (41).....	71
ANNEXE 7 : SPECTRE ^{13}C , 101 MHZ, MEOD ; COMPOSE (41).....	72
ANNEXE 8 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, ACETONITRILE-D3 ; COMPOSE (42).....	73
ANNEXE 9 : SPECTRE ^{13}C , 101 MHZ, ACETONITRILE-D3 ; COMPOSE (42).....	74
ANNEXE 10 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, MEOD ; COMPOSE (43).....	75
ANNEXE 11 : SPECTRE ^{13}C , 101 MHZ, MEOD ; COMPOSE (43).....	76
ANNEXE 12 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, ACETONITRILE-D3 ; COMPOSE (44).....	77
ANNEXE 13 : SPECTRE ^{13}C , 101 MHZ, ACETONITRILE-D3 ; COMPOSE (44).....	78
ANNEXE 14 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, MEOD ; COMPOSE (45).....	79
ANNEXE 15 : SPECTRE ^{13}C , 101 MHZ, MEOD ; COMPOSE (45).....	80
ANNEXE 16 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, MEOD ; COMPOSE (46).....	81
ANNEXE 17 : SPECTRE ^{13}C , 101 MHZ, MEOD ; COMPOSE (46).....	82
ANNEXE 18 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, MEOD ; COMPOSE (47).....	83
ANNEXE 19 : SPECTRE ^{13}C , 101 MHZ, MEOD ; COMPOSE (47).....	84
ANNEXE 20 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, MEOD ; COMPOSE (48).....	85
ANNEXE 21 : SPECTRE ^{13}C , 101 MHZ, CDCl_3 ; COMPOSE (48).....	86
ANNEXE 22 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, MEOD ; COMPOSE (71).....	87
ANNEXE 23 : SPECTRE ^{13}C , 101 MHZ, CDCl_3 ; COMPOSE (71).....	88
ANNEXE 24 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, ACETONITRILE-D3 ; COMPOSE (49).....	89
ANNEXE 25 : SPECTRE ^{13}C , 101 MHZ, CDCl_3 ; COMPOSE (49).....	90
ANNEXE 26 : SPECTRE ^1H , 400 MHZ, ACETONITRILE-D3 ; COMPOSE (72).....	91
ANNEXE 27 : SPECTRE ^{13}C , 101 MHZ, ACETONITRILE-D3 ; COMPOSE (72).....	92

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

APTS : acide para-toluène sulfonique

CHS : naringine-chalcone synthase

DCM : dichlorométhane

DIBAL-H : hydrure de diisobutylaluminium

Eq : équivalent

HPLC-MS : chromatographie en phase liquide à haute performance couplée à un spectromètre de masse

IC : concentration inhibitrice

LASEVE : laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales

M : concentration en mol/L

CMI : concentration inhibitrice maximale

NaOH : hydroxyde de sodium

NHD : néohespéridine dihydrochalcone

OMS : organisation mondiale de la santé

PBr₃ : tribromure de phosphate

Ppm : partie par million

R_f : rapport frontal

RMN : résonance magnétique nucléaire

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

UV : ultraviolet

À ma famille,

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier en premier lieu mon directeur de maîtrise, le Professeur André Pichette, ainsi que mon co-directeur le Professeur Jean Legault, sans qui je n'aurais pu effectuer mon projet au sein du LASEVE. Je tiens également à remercier mon superviseur, le Professeur Jérôme Alsarraf, pour m'avoir soutenu tout au long de ma maîtrise, pour ne jamais avoir douté de moi et m'avoir transmis son amour pour la chimie.

Mon expérience dans ce laboratoire n'aurait pas été si agréable si je ne l'avais pas partagée avec mes collègues et amis. Je tiens donc à remercier les superviseurs présents dans le laboratoire : Dr Balla Silla, Dr François Simard et Dr Vakhtang Mshvildadze pour avoir pris le temps de répondre à mes interrogations lorsque j'en avais besoin. J'adresse mes remerciements aux étudiants du laboratoire, à vous : Valentine Coicaud, Marie Frissard, Lucas Petitpoisson et Romain Laleman pour votre bonne humeur et pour m'avoir fait vivre une très belle aventure ! Et plus particulièrement à Fanny Charlier, pour son soutien sans faille et pour m'avoir permis de donner le meilleur de moi-même à chaque instant.

J'ai une très grande pensée pour ma famille. Bien que trop loin de moi géographiquement parlant, vous êtes et serez toujours au plus près de moi dans mon cœur. Merci à mes parents, Didier Ardaillou et Laurence Ardaillou pour avoir cru en votre fille et m'avoir permis de réaliser l'un de mes plus grands rêves, c'est-à-dire d'aller au Québec. Si j'en suis là aujourd'hui c'est incontestablement grâce à vous. Merci à mon frère, Matthieu Ardaillou pour être mon frère tout simplement. Et merci au reste de ma famille pour m'avoir soutenu moralement du début jusqu'à la fin.

INTRODUCTION

Bien que les produits naturels aient joué un rôle important dans la découverte de médicaments, la plupart des grandes sociétés pharmaceutiques ont considérablement réduit leurs recherches sur ces composés. Et pour cause, les progrès de la synthèse organique ont permis d'obtenir des produits naturels et des dérivés via des synthèses totales ou encore des hémisynthèses.¹ En effet, cette chimie a permis la découverte de nouveaux analogues de produits naturels présentant, pour certains, une meilleure activité biologique. Aujourd'hui, l'intérêt des scientifiques se porte sur la recherche de nouveaux composés naturels encore inconnus à ce jour. Ces recherches ont permis la découverte d'une famille de produits naturels en particulier : les balsacones.

Les balsacones, molécules portant une structure de dihydrochalcone cinnamylée, ont été isolées pour la première fois en 2013 par le Laboratoire d'Analyse et de Séparation des Essences Végétales (LASEVE) dans les bourgeons du peuplier baumier (*Populus balsamifera*).² Retrouvé au nord des États-Unis, jusqu'au nord du Canada, le peuplier baumier fait partie de la famille des Salicacées (*Salicaceae*). Plusieurs espèces du genre *Populus* étaient utilisées autrefois par les Premières Nations pour une utilisation domestique, pour des traitements thérapeutiques et notamment comme antiseptique. Les études portées sur l'activité biologique des balsacones ont permis de montrer que certaines d'entre elles possèdent des propriétés antibactériennes. Elles inhibent efficacement la croissance des souches *S. aureus* sensibles et résistantes à la méticilline (SARM).³ Il serait donc intéressant de travailler sur ces composés et de les valoriser.

En 2017, Serdar Burmaoğlu a alors mis au point une synthèse totale permettant d'obtenir certains composés de cette famille.⁴ Cependant, il s'agit là d'une synthèse longue et fastidieuse de 10 étapes faisant intervenir des groupements protecteurs, des solvants organiques et des réactifs nocifs et non renouvelables.⁴

Afin d'obtenir ces composés au potentiel biologique intéressant, tout en utilisant une méthode plus respectueuse de l'environnement, il serait intéressant d'utiliser comme approche l'hémisynthèse. En effet, placée entre la synthèse organique et la phytochimie, l'hémisynthèse permet d'obtenir des composés à haute valeur ajoutée en utilisant comme précurseurs des composés naturels. Dans cette optique le LASEVE a développé l'hémisynthèse des balsacones. Il s'agit d'une alkylation de Friedel-Crafts réalisée en une étape catalytique, sans groupement protecteur et sans réactif nocif et non renouvelable permettant d'obtenir des rendements de l'ordre de 60 %. Cette voie de synthèse fait intervenir des composés biosourcés : un alcool allylique et une dihydrochalcone qui permettent d'obtenir une molécule à haute valeur ajoutée.⁵

Dans la nature se trouvent différentes familles de composés actifs sur diverses pathologies ayant également un squelette commun de dihydrochalcone. Parmi celles-ci se retrouvent la famille des uvarétines, connues pour leur activité cytotoxique (IC₅₀ de 9,3 μ M sur la lignée de cellules promyélocyaires humaines HL-60). Elles se différencient des balsacones par leur squelette de dihydrochalcone benzylée.⁶⁻⁷⁻⁸ Les érioschalcones peuvent également être retrouvées et se révèlent être actives contre des bactéries à Gram négatif (*Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus megaterium* et *Escherichia coli*) avec un rayon de zone d'inhibition de 7 à 10 mm contre 14 à 18 mm pour les contrôles positifs (pénicilline et tétracycline). Il s'agit là de dihydrochalcones prénylées.⁹

L'objectif de ces travaux est d'obtenir des analogues de plusieurs familles de dihydrochalcones (balsacones, uvarétines et érioschalcones) aux activités biologiques diverses à partir d'un précurseur commun, la néohespéridine dihydrochalcone (NHDC) déglycosylée. En effet, la néohespéridine est un glycoside de flavanone présent en grande quantité dans certains *Citrus* (e.g. *Citrus aurantium*). Elle peut être convertie en NHDC déglycosylée en deux étapes : clivage du cycle pyranique puis hydrolyse acide.

Afin de répondre au mieux à l'objectif, l'hémisynthèse mise au point au laboratoire sera utilisée. La dihydrochalcone sera alkylée avec différents alcools (cinnamique, benzylique ou prénylique) en présence d'un catalyseur (acide de Brønsted) afin d'obtenir un panel de composés. Suite à ces synthèses, l'activité biologique des composés obtenus sera évaluée sur les souches de bactéries *S. aureus* et *E. coli* ainsi que sur les lignées cellulaires cancéreuses A-549 (cancer du poumon), DLD-1 (cancer du côlon) et la lignée de cellules saines WS-1 (fibroblastes de peau).

Un total de cinq analogues de balsacone, quatre analogues d'avarétine, trois analogues d'érioschalcone ainsi que des produits secondaires exploitables ont été obtenus à partir d'une dihydrochalcone commune : la NHDC déglycosylée. Les activités cytotoxiques ainsi que les activités antibactériennes sur les souches de bactéries à gram positif et négatif ont été évaluées. Parmi les composés synthétisés, trois en particulier présentent des activités antibactériennes intéressantes contre *S. aureus* avec des CMI₉₀ variant entre 2,3 et 2,6 μ M. Ceux-ci incluent un analogue de balsacone portant un chlore, un analogue d'avarétine portant un chlore ainsi qu'un composé C-géranylé.

Ce mémoire se divise en cinq parties. La première partie sera un état de la littérature permettant d'introduire les notions ainsi que les principaux travaux antérieurs à la base de la présente recherche. La deuxième partie présente les résultats obtenus ainsi que les discussions associées. La troisième partie est la partie expérimentale et présentera le matériel et les méthodes ainsi que les composés caractérisés. Pour finir, une dernière partie permet de présenter la conclusion de ces travaux ainsi que les perspectives d'avenir pour une suite à ce sujet.

CHAPITRE 1

REVUE DE LA LITTÉRATURE

1.1 GÉNÉRALITÉS

La flore a toujours été une source inestimable de composés aux activités biologiques variées. En effet, plusieurs Premières Nations utilisaient, il y a plusieurs siècles, des plantes pour se soigner. Que ce soit en Amérique du Nord, en Asie ou encore en Afrique, chaque tribu avait sa flore et ses secrets de médication. Par exemple, les peuples Cree ou encore Ojibwa, présents en Amérique du Nord, utilisaient plusieurs espèces de la famille *Populus*, plus particulièrement les écorces et les bourgeons, sous forme de pommade, comme anti-inflammatoire, anti-rhumatique ou encore expectorant.¹⁰ La tribu des Kaamba, présente au Congo ou encore la tribu des Zulu présente en Afrique du Sud, utilisaient les feuilles du genre *Eriosema* pour soigner les conjonctivites ou encore les troubles érectiles.^{9, 11}

C'est au début du XIX^{ème} siècle que la chimie des produits naturels a vu le jour. En effet, c'est à cette période que les techniques d'extraction, de purification et d'analyse efficaces ont commencé à émerger.¹² Dès lors, les chercheurs se sont particulièrement intéressés aux plantes anciennement utilisées dans les médecines traditionnelles afin de déterminer les composés responsables de leurs activités biologiques. Par exemple, l'effet anti-inflammatoire donné par certaines espèces du genre *Populus* est dû à la présence de flavonoïdes qui sont capables d'inhiber les enzymes de l'inflammation.¹³⁻¹⁴ En ce qui concerne l'utilisation du genre *Eriosema* utilisé par certaines tribus africaines pour soigner les troubles érectiles, ce sont des pyrano-isoflavones qui sont responsables de cette activité.¹⁵

Les ressources naturelles ont souvent été utilisées pour la découverte de nouveaux agents thérapeutiques. Les faibles rendements d'isolation de ces composés ont poussé les chercheurs à utiliser la synthèse organique et plus particulièrement la synthèse totale, afin de les obtenir en plus grande quantité.¹ Cependant, la synthèse totale fait intervenir de nombreux réactifs nocifs. Une alternative à la synthèse totale est l'hémisynthèse. Cette approche utilise comme base de travail des produits naturels, présents abondamment dans la nature, pour préparer des composés à haute valeur ajoutée. Cette approche pourrait être appliquée à la famille des

balsacones. En effet, ces derniers sont présents en faibles quantités dans la nature contrairement à leurs précurseurs biosynthétiques, les dihydrochalcone, qui y sont souvent plus abondantes.^{2, 16} Une hémisynthèse des composés de cette famille a été mise au point et pourrait être utilisée afin de préparer plusieurs analogue de balsacones.⁵ De plus, les dihydrochalcones ne sont pas uniquement des précurseurs des balsacones.⁵ Le squelette de dihydrochalcone se retrouve également sur plusieurs squelettes de composés naturels comme les uvarétines et les erioschalcones. Il pourrait donc être intéressant d'utiliser cette même hémisynthèse pour synthétiser des analogues des familles de composés naturels précédemment citées.^{6, 9}

1.2 LES DIHYDROCHALCONES, LA NÉOHESPÉRIDINE

Les dihydrochalcones sont des chalcones dont la double liaison centrale a été hydrogénée et dont la structure générale est présentée à la figure 1. La voie biosynthétique des dihydrochalcones a été recensée dans la littérature pour une dihydrochalcone en particulier, il s'agit de la phlorétine. La phlorétine est produite à partir d'une molécule de 4-coumaroyl-CoA dont la double liaison est réduite en présence d'une enzyme particulière qui va réagir avec 3 molécules de malonyl-CoA. La réaction est catalysée par une enzyme spécifique, la naringinine-chalcone synthase (CHS).¹⁷ Les dihydrochalcones sont des produits naturels possédant des activités antioxydantes ainsi qu'une activité cytotoxique intéressante.¹⁸⁻¹⁹ La plupart des dihydrochalcones sont naturellement retrouvées sous forme glycosidique, comme la phloridzine, tandis que certaines sont retrouvées sous forme aglycone.^{2, 20}

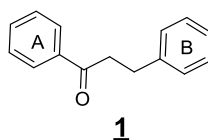


Figure 1. Structure générale des dihydrochalcones (**1**).

Les dihydrochalcones ne sont pas toutes d'origine naturelle. En effet, la néohespéridine dihydrochalcone (NHDC) (**2**) présentée à la Figure 2, a été préparée pour la première fois dans les années 1950 par Gentili et Horowitz, qui travaillaient sur la préparation de glycosides phénoliques afin de comprendre les relations entre la structure chimique et l'amertume.²¹ Dans le cadre de ce projet de recherche, la NHDC (**2**) a été préparée à partir de la néohespéridine (**3**). À la dégustation, elle a été d'un goût sucré plutôt qu'amer.²¹ En Europe, elle est autorisée depuis 1994 comme additif alimentaire en tant qu'édulcorant intense (E959).²² La néohespéridine (**3**), illustrée à la Figure 2, est naturellement présente dans la pelure du fruit immature de l'orange amère (*C. aurantium*).²³

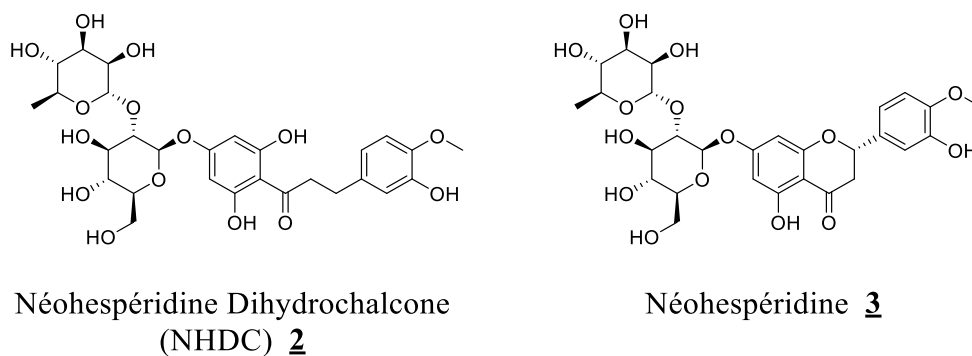


Figure 2. Structure de la néohespéridine dihydrochalcone (**2**) et de la néohespéridine (**3**).

Lors de ce projet de maîtrise, c'est la NHDC déglycosylée (**5**) qui a été utilisée. Cette dernière est obtenue à partir de la néohespéridine. Pour cela une solution alcaline de soude (NaOH) est utilisée pour cliver le cycle pyranique de la néohespéridine (**3**), ce qui donne la néohespéridine chalcone (**4**). Par la suite, une hydrogénation catalytique permet d'obtenir la NHDC (**2**) qui précipite en présence d'acide chlorhydrique.²⁴ Enfin, une hydrolyse acide permet d'obtenir l'aglycone de la NHDC (**5**).

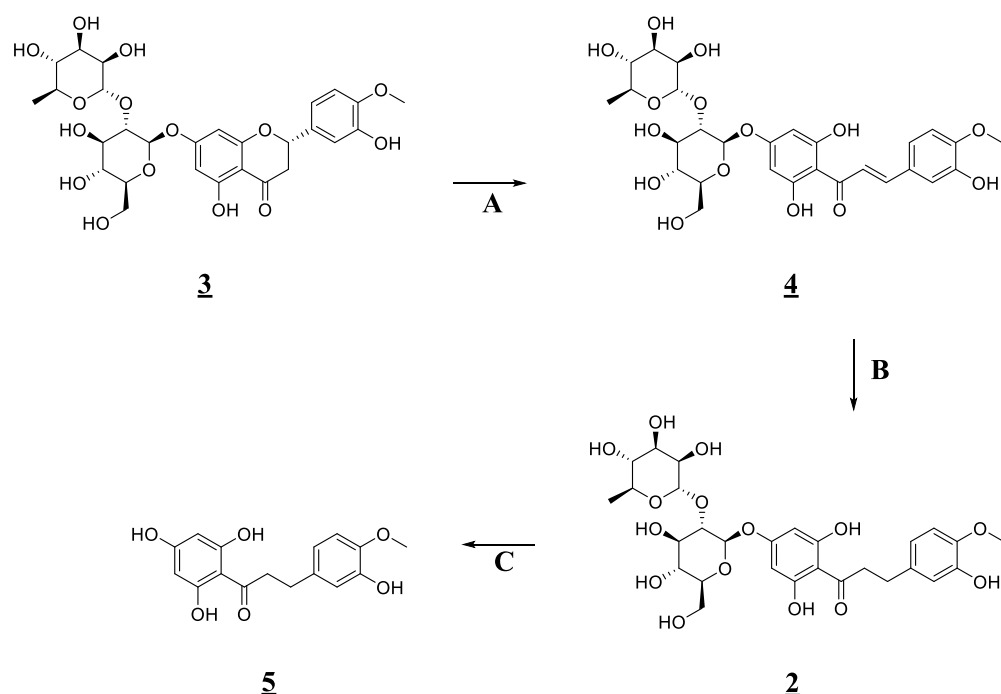


Figure 3. Synthèse de la néohespéridine dihydrochalcone déglycosylée (**5**) à partir de la néohespéridine (**3**) **A.** clivage du cycle pyranique ; **B.** hydrogénation; **C.** hydrolyse.

Dans la nature, plusieurs familles de composés présentent un squelette de dihydrochalcone. La Figure 4 montre l'exemple des balsacones (**6**), des uvarétines (**7**) et des érioschalcones (**8**).^{2, 6, 9} Les composés appartenant à chacune de ces familles possèdent une activité biologique différente. Tandis que les balsacones sont actives contre les souches de bactéries à Gram positif et les érioschalcones contre les souches de bactéries à Gram négatif, les uvarétines sont des agents cytotoxiques.^{2, 6, 9} Ces groupes de molécules ont tous en commun la présence d'un groupement alkyle sur le cycle A (Figure 1).

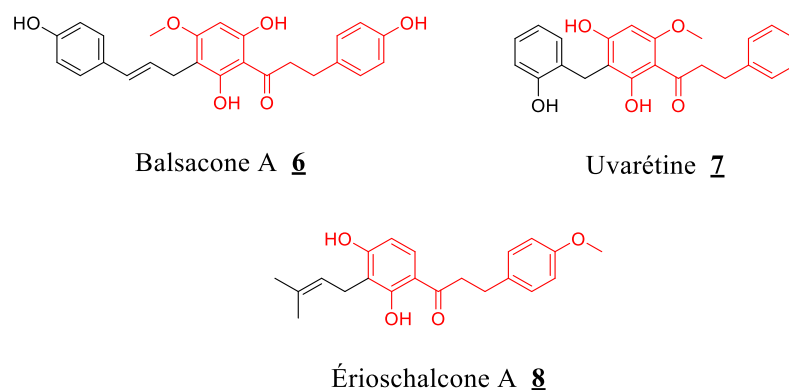


Figure 4. Structure de la balsacone A (**6**), de l'uvaretine (**7**) et de l'érioschalcone A (**8**).

1.3 LES BALSACONES

Les balsacones représentent une famille de composés naturels découverts dans les bourgeons du peuplier baumier (*Populus balsamifera*) qui possèdent une structure de dihydrochalcone cinnamylée (Figure 5).²

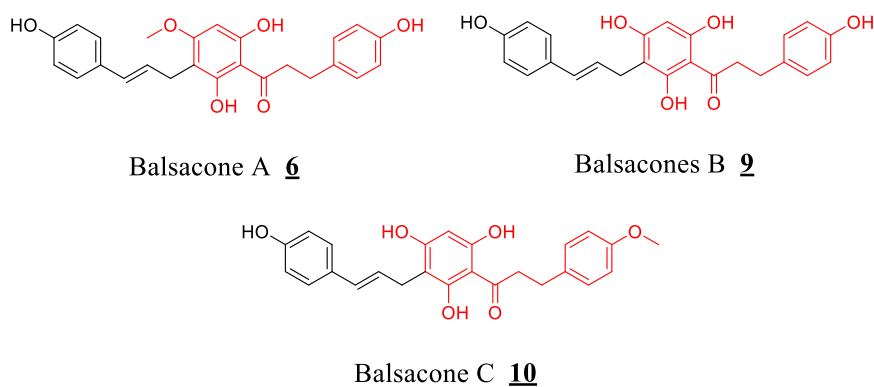


Figure 5. Structure des balsacones A (**6**), B (**9**) et C (**10**).

Comme le montre le tableau 1, les balsacones présentent une activité antibactérienne contre des souches de *Staphylococcus aureus* ainsi que des souches de *Staphylococcus*

aureus résistantes à la méticilline (SARM). Cette activité antibactérienne rend cette famille de composés très intéressante. En effet, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le *Staphylococcus aureus* est l'une des bactéries résistantes les plus souvent signalées. De plus, les balsacones sont peu cytotoxiques d'après une évaluation réalisée contre une lignée de cellules de peau (WS-1).³ D'après une étude faite en 2019 par H. Côté et *al.*, la balsacone C agit en tant qu'antibactérien par altération de la membrane des bactéries et n'induit pas de résistance.²⁵

Tableau 1. Activité antibactérienne des balsacones A (**6**), B (**9**) et C (**10**).contre *S. aureus* et une souche de SARM puis activité cytotoxique contre une lignée de cellules de peau (WS-1)

	MIC ₉₀ (μM)		IC ₅₀ (μM)
	<i>S. aureus</i>	SARM	WS-1
Balsacone A	6,3	50	>20
Balsacone B	6,3	13	>200
Balsacone C	3,1	6	>20
Gentamycine	0,02	0,1	Nd ^a

^a Non Déterminée

Malheureusement, les balsacones ne sont pas présentes en grande quantité dans les extraits de bourgeons du Peuplier Beaumier et leur isolation nécessite beaucoup de matière première ainsi qu'une grande quantité de solvant. Et pour cause, les balsacones A (**6**), B (**9**) et C (**10**).ont été isolées avec des rendements respectifs de 0,003, 0,004 et 0,002 %. Peu de végétaux sont des sources riches en balsacones. Dans ce contexte, une synthèse totale des balsacones B (**9**) et C (**10**), présentées à la Figure 6, a été mise au point en 2017.⁴ Cette synthèse, longue et fastidieuse, est réalisée en 10 étapes, avec des groupements protecteurs et des réactifs non renouvelables et nocifs comme le tribromure de phosphore (PBr₃) pour un rendement global de 1,9 %.

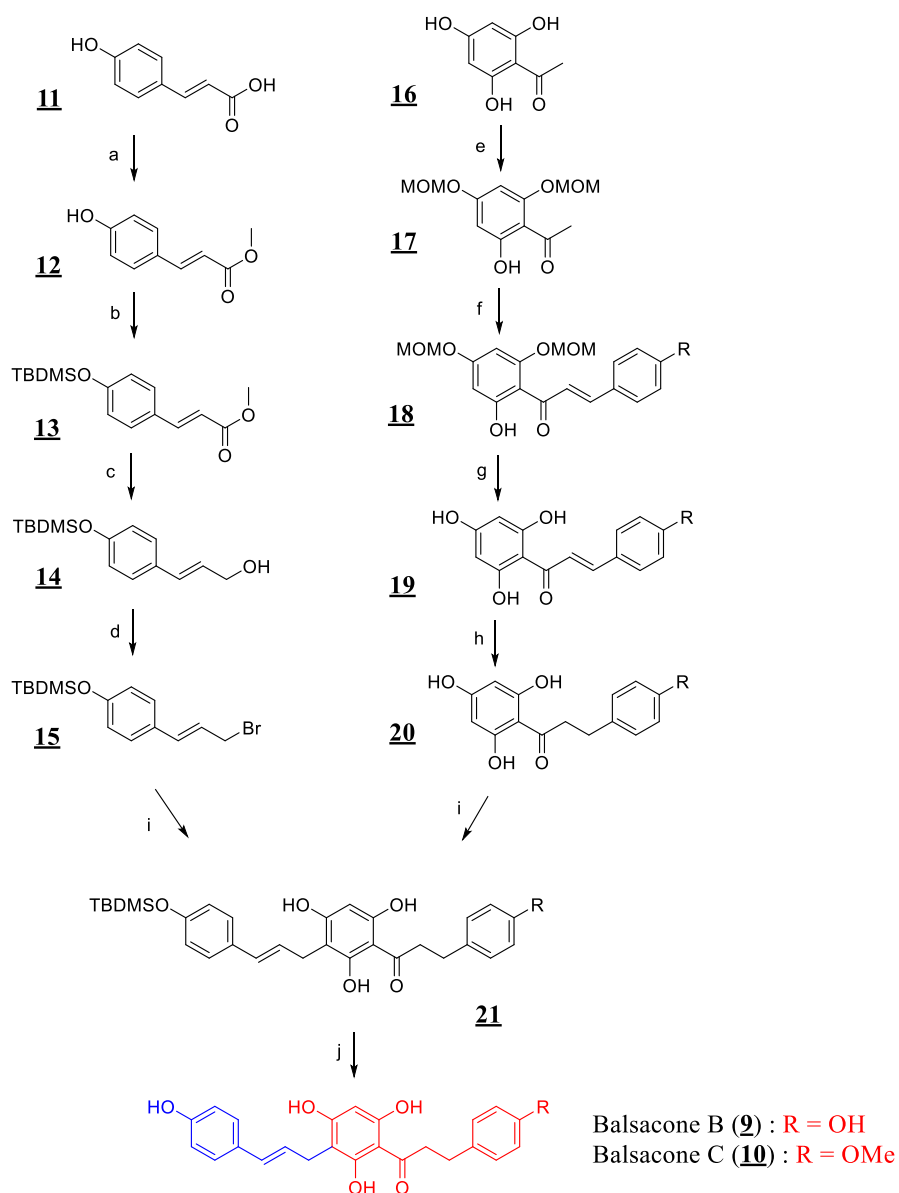


Figure 6. Synthèse des balsacones B (**9**) et C (**10**): a. APTS, MeOH, 92 % ; b. TBDMSCl, TEA, DCM anhydre, 99 % ; c. DIBAL-H, DCM anhydre, 99 % ; d. PBr₃, diéthyléther, 96 % ; e. MOMCl, DIPEA, DCM, 71 % ; f. 1) benzaldéhyde, KOH, MeOH, 95 % ; 2) p-méthoxybenzaldéhyde, KOH, MeOH, 84 % ; g. 1) HCl, MeOH, 80 % ; 2) HCl, MeOH, 82 % ; h. 1) H₂ (gaz), PdC (cat.), MeOH, 77 % ; 2) H₂ (gaz), Pd-C (cat.), MeOH, 61 % ; i. NaH, THF, 50 % ; NaH, THF, 45 % ; j. TBAF, TFA, 55 %.

Au LASEVE, une voie alternative d'hémisynthèse a été développée. Il s'agit d'une alkylation de Friedel-Crafts.⁵ Cette alkylation est une substitution électrophile aromatique dans laquelle un alkyle se substitue à un atome d'hydrogène d'un composé aromatique. Cette méthode de synthèse s'effectue en une étape catalytique, sans groupement protecteur et sans réactif nocif et non renouvelable. Le principe est d'utiliser des composés biosourcés, un alcool allylique et une dihydrochalcone, et ainsi d'obtenir une molécule à haute valeur ajoutée. L'utilisation de l'alcool comme réactif de départ et non d'un halogénure d'alkyle apporte un avantage certain. Effectivement, les halogènes possèdent une toxicité avérée sur les hormones thyroïdiennes et ils sont également néfastes pour l'environnement.²⁶

Le mécanisme de la réaction d'alkylation de Friedel-Crafts présenté à la Figure 7 est le suivant: l'acide protone l'alcool allylique, ce qui entraîne une déshydratation du composé **23**. Le carbocation du composé **24** ainsi obtenu est piégé par l'aromatique enrichi de la dihydrochalcone (**25**) pour conduire à un intermédiaire de Wheland (**26**). Sa déprotonation permet finalement de former la balsacone attendue (**27**) et de régénérer le proton prêt à activer un autre alcool allylique. Cette réaction qui fonctionne en présence d'un alcool et d'une dihydrochalcone, pourrait être appliquée à des alcools différents de ceux présentés ci-dessus. Cette réaction pourrait faire intervenir un alcool benzylique ou encore un alcool prénylique qui en réagissant avec une dihydrochalcone permettrait d'obtenir respectivement des analogues d'uvarétine et d'érioschalcone.

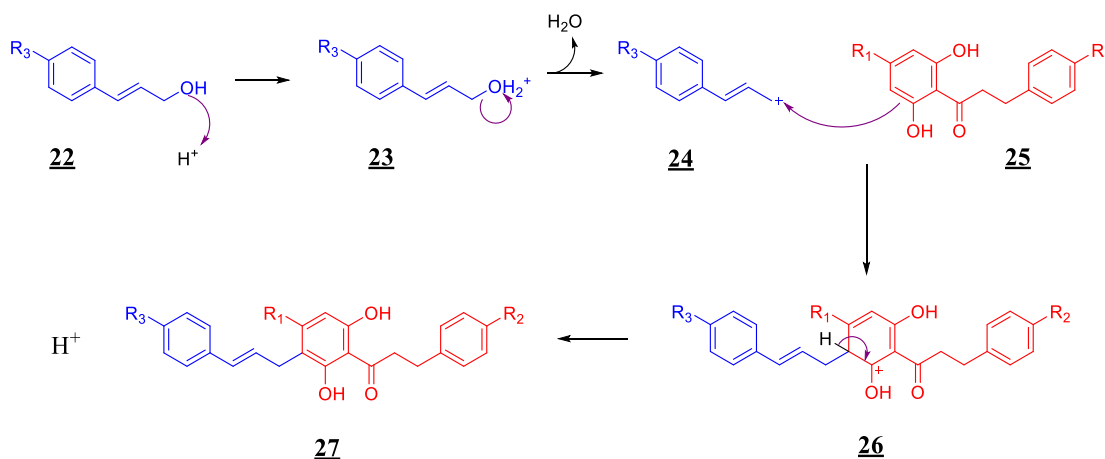


Figure 7. Mécanisme de réaction de l'alkylation de Friedel-Crafts pour l'hémisynthèse des balsacones.

1.4 LES UVARÉTINES

Les uvarétines représentent une famille de composés naturels découverts dans un premier temps dans l'écorce de *Uvaria chamae* puis dans plusieurs autres espèces du genre *Uvaria*.⁶⁻⁷⁻⁸ Certaines espèces, comme c'est le cas pour *Uvaria klaineana* étaient utilisées autrefois en Afrique et plus particulièrement au Gabon pour traiter la fièvre.²⁷ Elles portent une structure de dihydrochalcone benzylée (Figure 8) et présentent une activité cytotoxique contre la lignée de cellules leucémiques humaines HL-60, contre des cellules cancéreuses leucémiques murines P-388 ainsi que contre des carcinomes humains du nasopharynx (KB).^{8,}

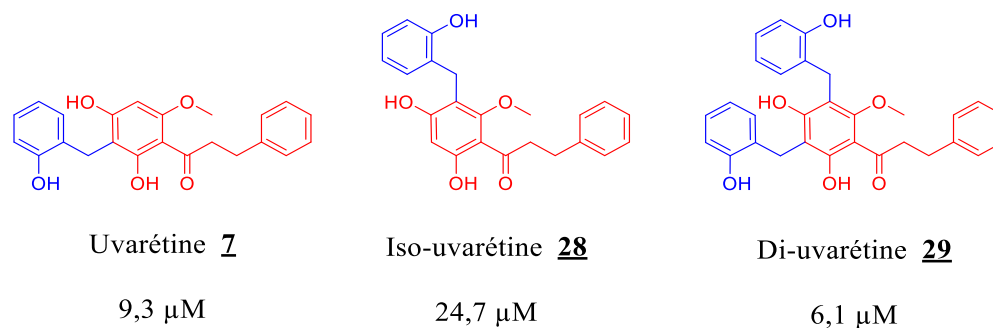


Figure 8. Structure de l'uarétine (**7**), l'iso-uarétine (**28**) et la di-uarétine (**29**) et leurs activités cytotoxiques (IC₅₀ en µM) contre une lignée de cellules promyélocytaires humaines (HL-60).

Malheureusement, comme pour les balsacones, les uvarétines ne sont pas présentes en grande quantité dans la nature. En effet, pour 1,58 kg de matière première sèche, 0,9 g d'uarétine (**7**) pur sont obtenus, soit un rendement de 0,06 %.⁸ Une synthèse totale a alors été mise au point en 1985 par Malterud *et al.*³⁰ Cette synthèse est réalisée en sept étapes et emploie des réactifs nocifs et non renouvelables avec un rendement total de moins de 5 %. Une deuxième synthèse totale élaborée en 2019 par le groupe de Dallman *et al.*, permet d'obtenir un rendement global supérieur à 23 %. Cette synthèse de sept étapes fait également intervenir des réactifs nocifs non renouvelables (Figure 9).³¹

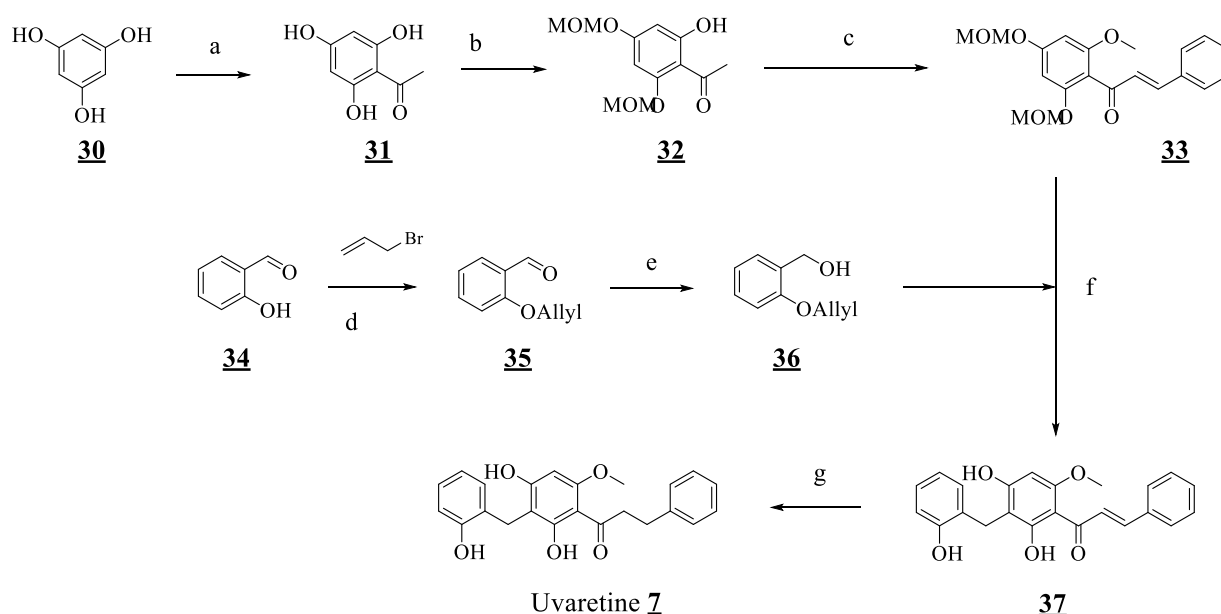


Figure 9. Synthèse totale de l'uvaretine (**7**) selon le groupe de Dallman³¹ a) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, Ac_2O , Rt, 88 % ; b) MOMCl, DIPEA, DCM, 79 % ; c) 1) Me_2SO_4 , K_2CO_3 , 2) PhCHO , KOH, H_2O , 73 % ; d) K_2CO_3 , DMF, 95 % ; e) NaBH_4 , MeOH, 72 % f) ; 1) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, dioxane, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, K_2CO_3 , MeOH, 51 % 2) MeOH HCl, 65 % ; g) Pd/C , H_2 , MeOH, 90%.

Afin d'améliorer le rendement de synthèse des uvarétines ainsi que de réduire l'utilisation de solvants nocifs et non renouvelables tels que les réactifs chlorés, il pourrait être intéressant, au vu du squelette de cette famille de composé, d'utiliser l'hémisynthèse mise en place pour les balsacones. En effet, la dihydrochalcone pourrait réagir avec un alcool benzylique en présence d'acide para-toluène-sulfonique (APTS).

1.5 LES ÉRIOCHALCONES

Les érioschalcones, dont deux exemples sont représentés à la Figure 10, sont des dihydrochalcones prénylées (Figure 10) découvertes pour la première fois en 2008 dans la plante *Eriosema glomerata*.⁹ Des recherches sont portées sur cette plante car plusieurs

espèces du genre *Eriosema* étaient utilisées par une tribu d'Afrique du Sud pour le traitement des troubles de l'érection.^{9, 11} Une tribu autochtone du Venezuela utilisait également une décoction de racine de *Eriosema rufum* contre la stérilité chez les femmes et pour accélérer l'accouchement.³²

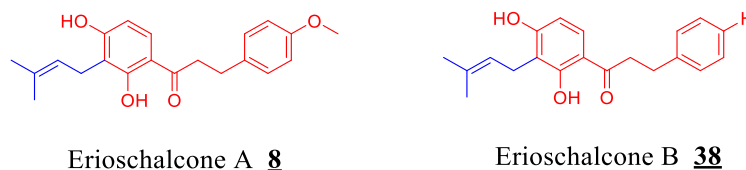


Figure 10. Structure des érioschalcons A (**8**) et B (**38**).

Il a été découvert que les érioschalcons A (**8**) et B (**38**) sont actives contre *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli* (test de diffusion sur gélose) ainsi que contre plusieurs espèces d'algues et de champignons.⁹ Les activités biologiques ont été recensées dans le Tableau 2 sous forme de rayon d'inhibition en utilisant comme témoin positif la pénicilline ainsi que la tétracycline.

Tableau 2. Activité antibactérienne des érioschalcons sur des souches de bactéries à Gram négatif (*Bacillus megaterium* et *Escherichia coli*)

	Rayon d'inhibition (mm)	
	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Escherichia coli</i>
Érioschalcone A	7	10
Érioschalcone B	10	8
Pénicilline	18	14
Tétracycline	18	18

Lors de l'isolation des érioschalcons A (**8**) et B (**38**) à partir de la plante entière, les rendements ont été de moins de 0,001 % pour chacun des deux composés.⁹ De plus, il n'existe pas de synthèse totale décrite dans la littérature. La seule synthèse d'une dihydrochalcone prénylée recensée était une transformation chimioenzymatique de la phlorétine impliquant la diméthylallyltryptophane synthase qui a donné un composé C-prénylé dans un modeste rendement de 14,5%.³³

Il serait donc intéressant de mettre au point une approche d'obtention de ces composés. L'hémisynthèse mise en place pour la synthèse des balsacones pourrait aussi être la solution. La dihydrochalcone pourrait réagir avec un alcool prénylique afin de donner les composés désirés.

1.6 HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS DE RECHERCHE

Comme discuté précédemment, il existe dans la nature différentes familles de dihydrochalcones C-alkylées dont l'activité dépend en partie de la nature du groupement qui la fonctionnalise. Comme pour les balsacones, les synthèses totales multi-étapes et impliquant des solvants et des réactifs nocifs sont rarement de bonnes alternatives pour la production de produits à haute valeur ajoutée. Dans le cas des balsacones, une hémisynthèse en une étape catalytique, douce, sans groupement protecteur et sans réactif nocif et non renouvelable a été mise au point. Il s'agit d'une alkylation de Friedel-Crafts faite à partir de produits biosourcés. Cette hémisynthèse permet d'obtenir des composés à haute valeur ajoutée. Cette hémisynthèse pourrait être appliquée aux deux autres familles de dihydrochalcones C-alkylées, soit les uvarétines et les érioschalcons.

Ce mémoire présente l'application de cette réaction d'alkylation à ces trois familles de composés d'activités biologiques variées à l'aide d'un précurseur commun, la NHDC déglycosylée. Les structures générales des composés ciblés sont présentés à la Figure 11.

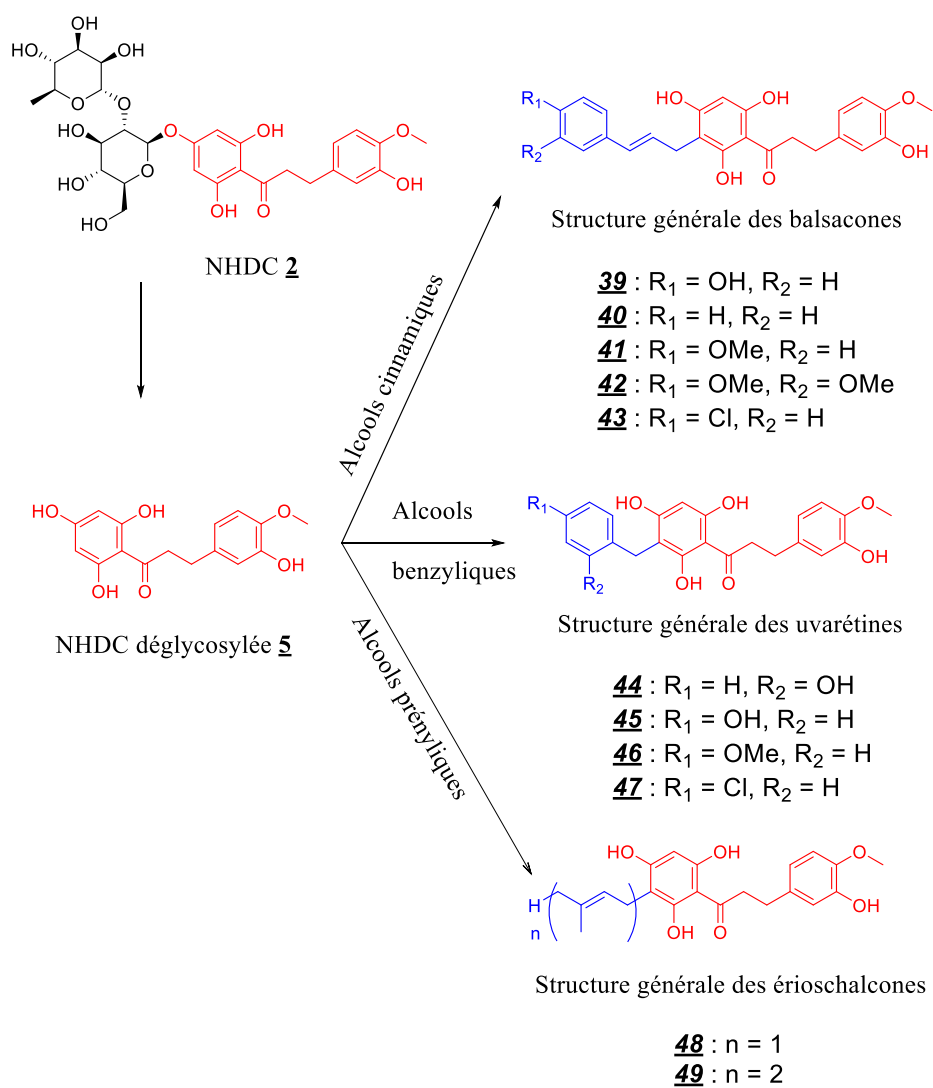


Figure 11. Structure générale des composés ciblés par l'approche de synthèse à partir d'un précurseur commun.

CHAPITRE 2
RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

2.1 PRÉPARATION DES PRÉCURSEURS

2.1.1 PRÉPARATION DE LA NÉOHESPÉRIDINE DÉGLYCOSYLÉE

La néohespéridine dihydrochalcone déglycosylée (**5**) a été obtenue par hydrolyse de la néohespéridine dihydrochalcone commerciale (**2**) à l'échelle du gramme (Figure 12). Le composé **2** a réagi avec de l'acide chlorhydrique (3 M) en présence d'éthanol, à reflux pendant 2 h, pour donner le composé **5**, sous forme de poudre blanche, avec un rendement de 75 %. Une analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN) a permis de valider la structure du composé (ANNEXE 1).

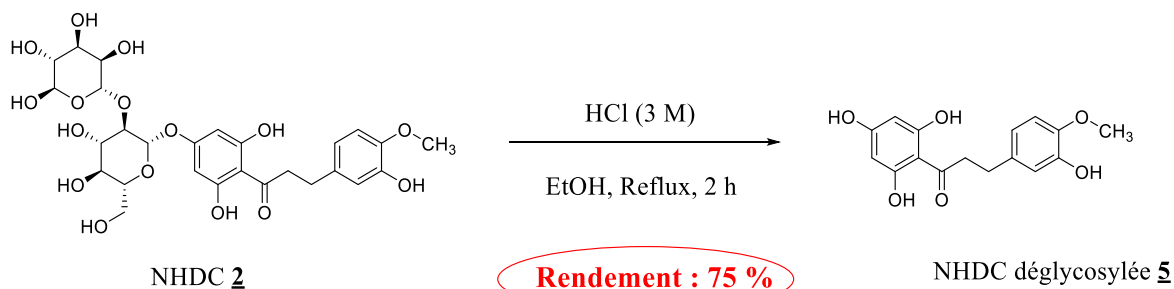


Figure 12. Synthèse de la NHDC déglycosylée (**5**) à partir de la NHDC commerciale (**2**).

2.1.2 PRÉPARATION DES ALCOOLS

Lors de ce projet, cinq alcools allyliques, quatre alcools benzyliques et trois alcools prényliques ont été utilisés (Figure 13). Parmi eux se trouvent l'alcool 4-hydroxycinnamique (**50**), l'alcool 2-méthoxy benzylique (**55**) et le préinol (**59**) qui correspondent aux groupements souvent présents sur les composés naturels. De plus, les alcools 4-chlorocinnamique (**54**) et 4-chlorobenzylique (**58**) permettent d'étudier l'effet d'un groupement halogène sur la

molécule. L'utilisation du reste des alcools permet d'étudier l'effet de différents substituants sur différentes positions du cycle benzylique des alcools.

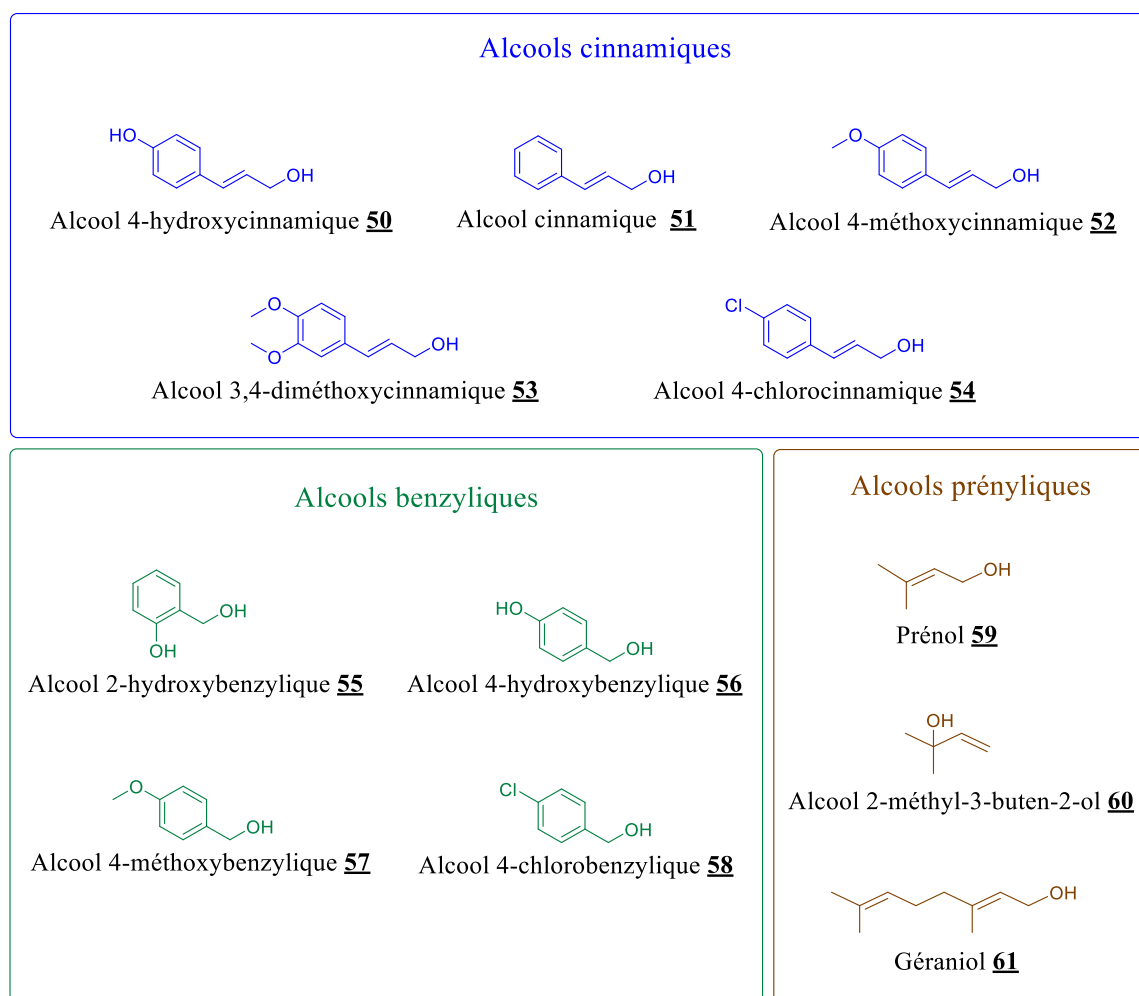


Figure 13. Structures des alcools cinnamiques, benzyliques et prényliques utilisés.

Deux alcools ont été synthétisés après estérification et réduction de leur acide correspondant. Il s'agit de l'alcool 3,4-diméthoxycinnamique **53** et de l'alcool 4-chlorocinnamique **54** (Figure 14).

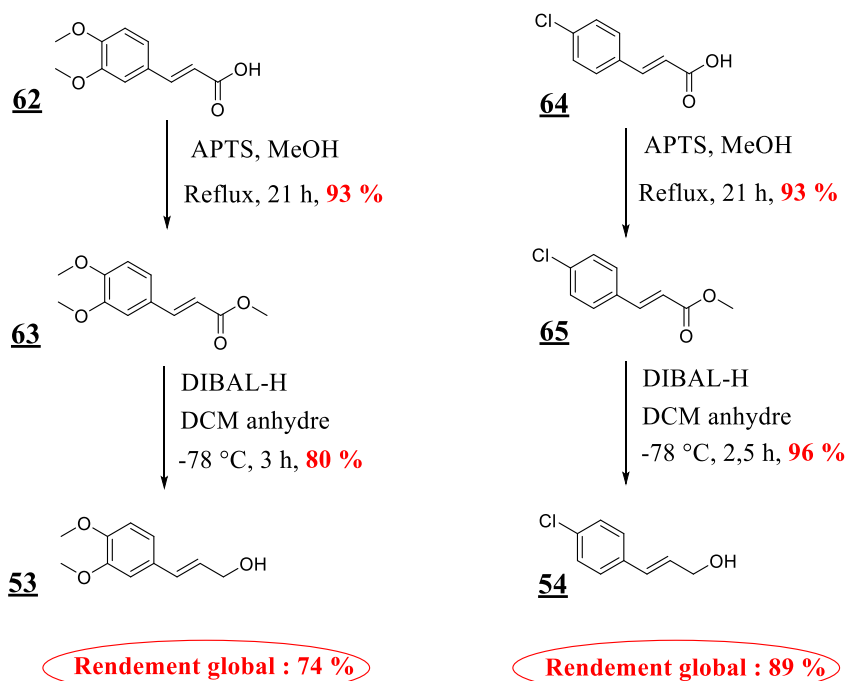


Figure 14. Synthèse des alcools engagés dans l'hémisynthèse à partir de leur acide correspondant.

La première étape a été l'estérification de l'acide qui a été faite dans le méthanol en présence d'APTS. Les rendements pour cette synthèse ont été de 93 % pour les deux composés. La deuxième étape a permis d'obtenir les alcools attendus. Les dérivés esters ont réagi avec de l'hydrure de diisobutylealuminium (DIBAL-H) dans le dichlorométhane (DCM) anhydre à -78 °C pendant 2,5 à 3 h. Les rendements de cette deuxième étape ont été de 96 % et 80 % ce qui a permis d'obtenir des rendements globaux de 74 % pour le composé **53** et de 89 % pour le composé **54**. Lors des deux étapes, les structures des composés ont été validées par RMN.

2.2 CINNAMYLATION

La méthode développée au laboratoire pour l'hémisynthèse des balsacones a été appliquée à cinq alcools cinnamiques pour obtenir les composés **39**, **40**, **41**, **42** et **43** dont les

spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été présentés dans les annexes 2 à 11. Les modifications apportées lors du protocole ont été énumérées dans le tableau 3. Deux des réactions ont nécessité un chauffage à reflux car les alcools ont été moins réactifs (**51** et **54**). Effectivement, l'alcool cinnamique ne portant pas de groupement donneur et le chlore présent sur l'alcool 4-chlorocinnamique possédant un effet inductif attracteur, les réactions n'ont pas fonctionné à température ambiante.

Tableau 3. Cinnamylation catalytique de la néohespéridine dihydrochalcone déglycosylée (**5**)

Alcool (R^1 , R^2)	Température	Durée (h)	Produit (rendement)
50 (OH, H)	Ambiante	3	39 (72 %)
51 (H, H)	Reflux	2	40 (69 %)
52 (OCH ₃ , H)	Ambiante	3	41 (49 %)
53 (OCH ₃ , OCH ₃)	Ambiante	3	42 (61 %)
54 (Cl, H)	Reflux	2	43 (29 %)

Le rendement obtenu lors de l'utilisation de l'alcool 4-hydroxycinnamique, soit l'alcool présent sur les composés naturels, a été de 72 %, c'est-à-dire largement supérieur à ceux présentés dans la littérature. Ce rendement a été obtenu lors d'une réaction catalytique en une seule étape faisant intervenir des substrats polyfonctionnels non protégés, générant comme seul co-produit de l'eau et permettant de récupérer la majeure partie de la dihydrochalcone à la fin de la réaction. Tous ces éléments ont fait de cette réaction une solution avantageuse comparativement aux approches de synthèse totales en plusieurs étapes retrouvées dans la littérature.

Les composés ont été caractérisés par RMN 1D (^1H , ^{13}C , DEPT-135) et 2D (COSY, HSQC, HMBC). Tous les signaux correspondant à la dihydrochalcone (**5**), dont le spectre ^1H est présenté à l'annexe 1, ont été présents. De plus, le singulet intégrant pour 1 au lieu de 2 à 5,97 ppm en position 14 de la dihydrochalcone, a permis de dire qu'elle a bien été alkylée en position 10. Afin de le confirmer, un spectre HMBC a permis de montrer la corrélation entre les atomes présents en position 9 et 10 de la molécule.

L'hémisynthèse permettant d'obtenir ces bons résultats a par la suite été appliquée à d'autres alcools cinnamiques. Comme présenté dans le tableau 3, des rendements allant de 29 à 69 % ont été obtenus. Le rendement de 29 % obtenu pour le composé **43** a pu être expliqué par la formation d'un composé secondaire qui a été isolé avec un rendement de 9 %. Le rendement total pour la réaction est de 38 %. Ce co-produit a été identifié comme étant un produit d'alkylation sur le cycle trisubstitué. Le spectre RMN ^1H a permis de montrer la présence de la cinnamylation en position 30. Effectivement, le cycle trisubstitué ne présente plus que 2 signaux et le signal pour les protons en position 29 n'est plus un doublet.

2.3 BENZYLATION

Le protocole mis en œuvre lors de la cinnamylation a été appliqué à quatre alcools benzyliques ce qui a permis d'obtenir les composés **44**, **45**, **46** et **47**. Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été exposés dans les annexes 12 à 19. Les conditions de réactions présentées dans le tableau 4 ont légèrement été modifiées par rapport aux précédentes. En effet, de meilleurs rendements ont été obtenus avec 2 équivalents de NHDC déglycosylée. Pour un même

réactif, la réaction a été réalisée avec 4 équivalents ainsi que 2 et une différence de 10 % de rendement a été observée.

Tableau 4. Benzylation catalytique de la néohespéridine dihydrochalcone déglycosylée (**5**)

Alcool (R ¹ , R ²)	Température	Durée (h)	Produit (rendement)
55 (H, OH) ^a	Reflux	2	44 (61 %)
56 (OH, H) ^b	Reflux	2	45 (74 %)
57 (OCH ₃ , H)	Ambiante	3	46 (36 %)
58 (Cl, H) ^b	Reflux	2	47 (36 %)

^a1 eq. de dihydrochalcone. ^b2 eq. de dihydrochalcone

Une première hémisynthèse a été réalisée sur la dihydrochalcone en utilisant l'alcool présent sur les composés naturels, c'est-à-dire l'alcool 2-hydroxybenzylique, pour obtenir un rendement de 61 %. Tout comme pour les cinnamylations, il s'agit là d'un rendement largement supérieur à ceux décrits dans la littérature et qui a été obtenu à partir d'une méthode en une seule étape et sans groupement protecteur contrairement à la synthèse multi étape présentée dans le chapitre revue de la littérature.

Le composé **44** a été caractérisé par RMN 1D (¹H, ¹³C, DEPT-135) et 2D (COSY, HSQC, HMBC) et sa structure a été validée. Tous les signaux correspondants à la dihydrochalcone (**5**), dont le spectre ¹H est présenté à l'annexe 1, ont été identifiés. De plus, le singulet intégrant pour 1 à 5,97 ppm en position 14 de la dihydrochalcone a permis de dire

qu'elle a bien été alkylée en position 10. Afin de le confirmer, un spectre HMBC a permis de montrer la corrélation entre les protons présents en position 9 et 10 de la molécule. Il en est de même pour les autres composés obtenus de cette famille.

Le rendement obtenu étant très satisfaisant, la réaction a été appliquée à d'autres alcools benzyliques. Parmi ceux-ci, l'utilisation de l'alcool 4-méthoxybenzylique (**57**) a permis d'obtenir un rendement de 36 %. Cependant, la réaction a également produit un composé secondaire d'alkylation sur le cycle trisubstitué avec un rendement de 14 %. Un rendement total de 50 % est donc obtenu lors de cette hémisynthèse. La position de l'alkylation a été validée par une analyse RMN de la même manière que pour les composés cinnamylés.

La réaction de Ritter, dû à l'utilisation de l'acétonitrile, aurait pu être une source de dégradation du réactif.³⁴ Effectivement l'acétonitrile a pu réagir avec l'alcool benzylique pour produire un amide comme présenté à la Figure 15. Cette hypothèse a cependant été écartée car aucun amide n'a été observé en LC-MS. De plus, la réaction a été effectuée avec de l'acétate d'éthyle et les rendements obtenus ont été similaires.

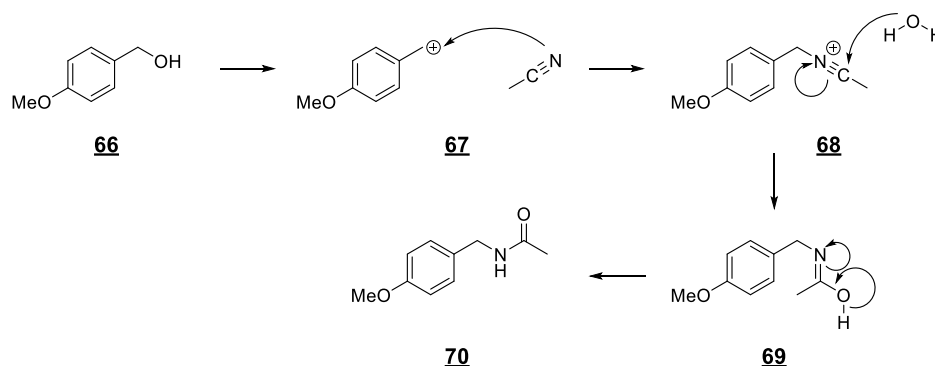


Figure 15. Mécanisme réactionnel de la réaction de Ritter.

2.4 PRÉNYLATION ET GÉRANYLATION

Pour finir, l'hémisynthèse a été appliquée à trois alcools prényliques pour obtenir les composés **48**, **71**, **49** et **72**. Les annexes 20 à 27 représentent les spectres ^1H et ^{13}C de ces produits. Le protocole qui a été mis en œuvre, a été très peu modifié pour chacun des alcools, même si différentes conditions ont été évaluées comme présenté dans les tableaux 5 et 6. Les réactions ont toutes été effectuées à température ambiante pendant 2 heures.

Tableau 5. Prénylation catalytique de la néohespéridine dihydrochalcone déglycosylée (**5**)

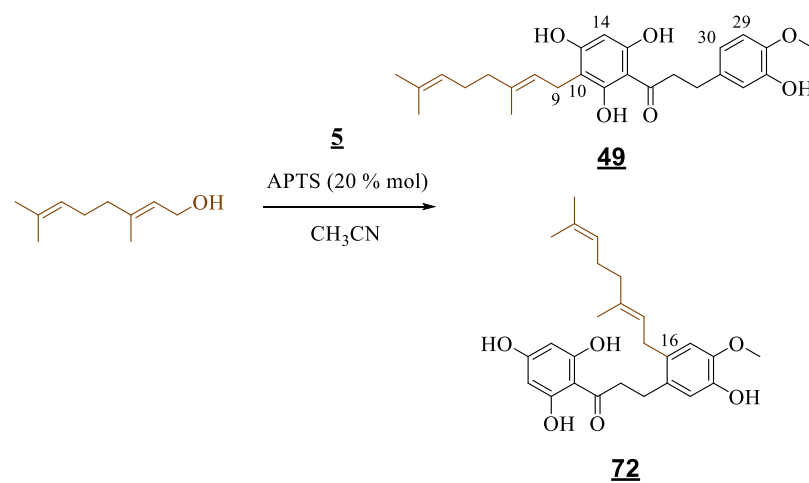
59 ou 60
 $\xrightarrow[\text{CH}_3\text{CN, TA, 2 h}]{\text{5, APTS (20 \% mol)}}$
 48 ou 71

Alcool	Équivalents Néohespéridine / Alcool	Rendement 48 + 71 (%)	Ratio 48 / 71
	1 / 1	45,8	2,1 / 1
	2 / 1	48,0	1,3 / 1
	4 / 1	39,5	1 / 1
	1 / 1	25,5	1,9 / 1
	2 / 1	44,4	1,4 / 1
	4 / 1	58,1	1,4 / 1

La réaction permettant d'obtenir le composé **48**, soit la dihydrochalcone C-prénylée, a été réalisée dans un premier temps avec du prénilol. Des équivalents en dihydrochalcone de 4,

2 et 1 ont été utilisés et des mélanges de **48** et **71** ont été obtenus avec des rendements respectifs de 39,5 %, 48,0 % et 45,8 %. Les ratios des composés présents dans le mélange ont été déterminés par RMN. Dans un deuxième temps cette même réaction a été appliquée avec du 2-méthyl-3-buten-2-ol en utilisant les mêmes équivalents en dihydrochalcone d'en l'idée d'augmenter les rendements précédemment obtenus. Les rendements obtenus ont été de 58,1 % pour 4 équivalents, 44,4 % pour 2 équivalents et pour finir 25,5 % pour 1 équivalent. Même si ces rendements ont été inférieurs à ceux obtenus lors de la cinnamylation ou de la benzylation, il n'en reste pas moins qu'il s'agit de la première synthèse permettant d'obtenir cette famille de composés. Effectivement, comme précisé dans le chapitre 1, la seule synthèse d'une dihydrochalcone prénylée présentée dans la littérature à ce jour est une transformation chimioenzymatique de la phlorétine impliquant la diméthylallyltryptophane synthase qui a donné un composé C-prénylée avec un modeste rendement de 14,5%.

La dihydrochalcone C-prénylée (**48**) ainsi que la dihydrochalcone O-prénylée (**71**) ont pu être isolés séparément et les caractérisations ainsi que les évaluations biologiques ont pu être effectuées. Ces deux composés ont été caractérisés par RMN 1D (^1H , ^{13}C , DEPT-135) et 2D (COSY, HSQC, HMBC) et leurs structures ont été déterminées. Les signaux correspondant à ceux de la néohespéridine ont été identifiés dans les deux cas. En ce qui concerne le composé C-prénylé, le signal à 5,97 ppm a permis de dire que la dihydrochalcone a bien été alkylée comme présenté dans le tableau 5. Effectivement, ce signal n'intègre plus pour 2 mais pour 1. Les autres analyses RMN ont validé cette position. Pour le composé O-prénylé, le signal à 5,97 ppm intègre pour 2 et le spectre ^{13}C a permis de valider le fait que la prénylation ne s'est pas faite sur un carbone. Des analyses 2D ont permis de déterminer les corrélations entre les protons en position 16 et 23.

Tableau 6. Géranylation catalytique de la néohespéridine dihydrochalcone déglycosylée (**5**)

Équivalents Néohespéridine / Alcool	Rendement 49 + 72 (%)	Ratio 49 / 72
2 / 1	23,4	1,4 / 1
4 / 1	30,7	1,4 / 1

Les deux conditions permettant d'obtenir le meilleur rendement pour chacun des alcools employés précédemment ont été l'utilisation de 2 équivalents de dihydrochalcone pour le composé *C*-prénylé et de 4 équivalents pour le composé *O*-prénylé. Ces conditions ont donc été utilisées afin de réaliser des géranylations. Celles-ci ont permis d'obtenir des rendements respectifs de 23,4 % et 30,7 % d'un mélange de **49** et **72**. Ces produits ont pu être séparés et caractérisés. Ces deux composés ont été caractérisés par RMN 1D (¹H, ¹³C, DEPT-135) et 2D (COSY, HSQC, HMBC) et leurs structures ont été déterminées. Les signaux correspondant à ceux de la néohespéridine ont été identifiés dans les deux cas. En ce qui concerne le composé *C*-géranylé, le signal intégrant pour 1 à 5,97 ppm a permis de dire que la dihydrochalcone a bien été alkylée en position 10. Les autres analyses RMN ont validé cette position. Pour le composé *O*-géranylé, le signal à 5,97 ppm intègre pour 2, la prénylation ne s'est donc pas faite sur ce carbone. De plus le spectre ¹H présente un signal manquant sur

le cycle trisubstitué. Des analyses complémentaires ont permis de valider que la géranylation a eu lieu en position 16. L'activité biologique du composé **49** a pu être évaluée.

Les faibles rendements qui ont été obtenus pour la synthèse des composés **48** + **71** et **49** + **72** pourraient être expliqués entre autres par une isomérisation du préinol ou du géraniol lors de la déshydratation. Se faisant, quatre produits mono-alkylés pourraient alors être obtenus en suivant le mécanisme de réaction présenté dans la partie **1.3**. De plus, chacun de ces quatre produits mono-alkylés pourrait donner naissance à des produits di-alkylés. Cette deuxième alkylation se ferait sur le cycle aromatique non alkylé car il deviendrait le moins encombré des deux. Enfin les alkylations pourraient s'effectuer sur les différentes positions des aromatiques et donc donner de nombreux produits secondaires. Ces suppositions seraient en concordance avec les résultats obtenus puisqu'une chromatographie liquide à haute performance couplée à un spectromètre de masse (HPLC-MS) a permis de montrer plusieurs traces de produits mono-alkylés et poly-alkylés dans les extraits bruts de ces réactions. Malheureusement, ceci reste théorique car ces composés ont été obtenus à l'état de trace et n'ont pu être isolés afin d'être caractérisés.

Afin de pallier les réactions parasites, une optimisation de la réaction a été réalisée. Les facteurs étudiés en plus du nombre d'équivalent de dihydrochalcone ont été la température (0 °C, température ambiante, reflux) ainsi que le temps de réaction (2 h, 3 h). Une réaction à température ambiante n'a pas permis de limiter les réactions secondaires tandis qu'une réaction à reflux les a favorisées. Il a été observé que plus le temps de réaction a été long, plus les produits de di-alkylation ont eu le temps de se former.

Une réaction faisant intervenir un solvant et un catalyseur différent a également été réalisée. Le catalyseur, anciennement l'APTS, a été remplacé par le BF₃Et₂O, et le dioxane a remplacé l'acétate d'éthyle selon l'étude de Tadigoppula *et al.*³⁵ Cette réaction a été réalisée avec le préinol ainsi que de le 2-méthyl-3-buten-2-ol. La réaction a été effectuée seulement à température ambiante et non à 0°C car la température de solidification du dioxane étant de

12 °C, celui-ci aurait empêché l'agitation du milieu réactionnel. L'effet de plusieurs équivalents) d'alcool a été étudié (1 eq, 2 eq, 10 eq) et tous ont donné le même résultat, à savoir que l'alcool a réagi complètement mais pas la néohespéridine. Effectivement, à la fin de la réaction l'alcool allylique a été entièrement consommé tandis que la néohespéridine engagée a été presque totalement récupérée: l'alcool s'est donc dégradé. Une analyse HPLC-MS a permis néanmoins de montrer la présence de plusieurs composés mono et di-prénylés à l'état de trace.

2.5 ACTIVITÉS BIOLOGIQUES

2.5.1 ACTIVITÉ CYTOTOXYQUE

L'activité cytotoxique de tous les composés a été mesurée sur deux lignées de cellules cancéreuses: A-549 (cellules du poumon), DLD-1 (cellules du côlon) et une lignée de cellules saines: WS-1 (fibroblastes de peau). Les concentrations inhibitrices permettant de diminuer de 50 % la croissance des cellules (IC_{50}) ont été obtenues selon les tests décrits dans la partie matériel et la méthode a été reportée dans le tableau 6. Le contrôle positif utilisé a été l'étoposide.

Tableau 7. Activité cytotoxique (IC_{50} en μM) mesurée sur A-549, DLD-1 et WS-1 avec comme contrôle positif l'étoposide selon le test de Hoechst

Composés	Hoechst (IC_{50} μM)		
	A-549	DLD-1	WS-1
<u>39</u>	43 \pm 4	35 \pm 6	58 \pm 3
<u>40</u>	36 \pm 3	28 \pm 5	57 \pm 4
<u>41</u>	47 \pm 6	26 \pm 8	56 \pm 5
<u>42</u>	30 \pm 3	36 \pm 4	57 \pm 6
<u>43</u>	44 \pm 3	44 \pm 7	59 \pm 5
<u>44</u>	>100	>100	>100
<u>45</u>	25 \pm 2	29 \pm 3	39 \pm 4
<u>46</u>	52 \pm 9	64 \pm 5	60 \pm 5
<u>47</u>	38 \pm 2	46 \pm 3	44 \pm 4
<u>48</u>	>100	>100	>100
<u>71</u>	>100	>100	>100
<u>49</u>	28 \pm 2	21 \pm 3	35 \pm 4
<u>5</u>	>100	>100	>100
Étoposide	0,56 \pm 0,04	0,96 \pm 0,08	10 \pm 5

L'activité cytotoxique des dihydrochalcones cinnamylées, benzylées et prenylées a été évaluée sur des lignées de cellules cancéreuses du poumon A549 et du colon DLD-1 ainsi que sur une lignée de cellules saines. Les résultats sont exprimés en concentration inhibant 50 % la croissance des cellules cancéreuses (IC_{50}). L'étoposide a été utilisé comme témoin positif. Les résultats montrent que les dihydrochalcones cinnamylées (composés **39-43**) sont modérément cytotoxiques avec des IC_{50} variant entre 30 et 59 μM . D'autre part, à l'exception du composé **44** qui est inactif ($IC_{50} > 100 \mu M$), les dihydrochalcones benzylées (composés

45-47) sont également modérément cytotoxiques avec des IC_{50} variant entre 25 et 64 μM . Finalement, les composés dihydrochalcones prénylées **48** et **71** sont inactifs avec des $IC_{50} > 100 \mu M$ alors que la dihydrochalcone géranylée **49** est active avec des IC_{50} variant entre 21 et 35 μM .

2.5.2 ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE

L'activité antibactérienne de tous les composés a été mesurée sur deux souches de bactéries: *E. coli* (bactérie à Gram négatif) et *S. aureus* (bactérie à gram positif). Les concentrations inhibitrices minimales permettant de diminuer de 90 % la croissance des bactéries ont été rapportées en μM dans le tableau 7. Le contrôle positif utilisé a été la gentamicine.

Tableau 8. Activités antibactériennes (CMI₉₀ en μM) mesurées sur *E. coli* et *S. aureus* avec comme contrôle positif la gentamicine

Composés	CMI ₉₀ (μM)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
<u>39</u>	>100	5,0 \pm 0,9
<u>40</u>	>100	11,6 \pm 0,2
<u>41</u>	>100	5,7 \pm 0,1
<u>42</u>	>100	6,0 \pm 0,1
<u>43</u>	>100	2,6 \pm 0,4
<u>44</u>	>100	12 \pm 1
<u>45</u>	>100	20 \pm 1
<u>46</u>	>100	4,2 \pm 0,5
<u>47</u>	>100	2,34 \pm 0,07
<u>48</u>	>100	98 \pm 1
<u>71</u>	>100	80 \pm 3
<u>49</u>	>100	2,5 \pm 0,3
Gentamicine	0,083 \pm 0,007	0,12 \pm 0,01

Aucun composé n'a été actif contre *E. coli* avec des activités mesurées supérieures à 100 μM pour tous les composés contre 0,083 μM pour la gentamicine. Au contraire, la plupart des composés ont présenté une activité antibactérienne contre *S. aureus*, ce qui a été plus ou moins en accord avec la littérature. En effet, comme présenté dans le chapitre 1, les balsacones sont connues pour leur propriété antibactérienne contre *S. aureus* tandis que les érioschalcones et les uvarétines sont respectivement connues pour leur propriété antibactérienne contre *E. coli* et leur activité cytotoxique.

Les composés cinnamylés sont des analogues de balsacones qui sont connues pour être actives contre *S. aureus*. Par exemple, la balsacone A (6) a une CMI₉₀ de 3,3 μM contre *S.*

aureus. Les résultats ont donc été en accord avec la littérature. En effet, les composés **39**, **40**, **41**, **42** et **43** sont actives contre *S. aureus* avec des CMI₉₀ entre 2,6 µM et 11,6 µM. Les modifications apportées ont permis d'obtenir des composés ayant des activités similaires ou supérieures à celle du composé naturel, soit la balsacone A (**6**) (CMI₉₀ de 3,3 µM). Le composé ayant la meilleure activité a été le composé **43** avec une CMI de 2,6 µM. Il s'agit du produit portant un groupement halogène. Il est donc intéressant de voir qu'un groupement halogène permet d'augmenter l'activité antibactérienne du composé. De là, il pourrait être intéressant de synthétiser un composé portant un autre halogène. Afin de valider au mieux les résultats il serait intéressant d'évaluer les activités biologiques de ces analogues en même temps que ceux des produits naturels pour les résultats soient plus fiables.

Comme présenté dans le chapitre 1, les uvarétines sont décrites dans la littérature comme des composés cytotoxiques. Les résultats obtenus sont modérément en accord avec la littérature. En effet, en plus d'avoir une légère cytotoxicité, ces composés ont montré une activité antibactérienne contre *S. aureus*. Cette différence de potentiel biologique pourrait être attribuable à la dihydrochalcone utilisée. Un changement de structure peut entraîner un changement d'activité biologique. Des CMI₉₀ allant de 2,34 µM à 20 µM ont été obtenues. Le composé ayant la meilleure activité avec un CMI₉₀ de 2,34 µM a été le composé **47**, c'est-à-dire le composé benzylé portant un chlore. Il s'agit ici du même phénomène que pour les cinnamylations dont le composé le plus actif a été le composé portant le chlore.

Plusieurs dihydrochalcones prénylées sont actives contre les souches de bactéries à Gram-négatif. Cependant, les composés **48**, **71** et **49** ont été inactifs contre *E. coli*. Le composé **49**, soit le composé géranylé en position 10, a présenté une activité intéressante contre *S. aureus* avec un CMI₉₀ de 2,5 µM. L'emploi de la néohespéridine comme dihydrochalcone pourrait expliquer leur inactivité sur *E. coli*. En effet, la dihydrochalcone prénylée retrouvée dans la nature n'est pas la néohespéridine, il s'agit de la 4-O-méthylavidigénine pour l'érioschalcone A et de la 2',4'-dihydroxydihydrochalcone pour l'érioschalcone B. Même s'il a été montré que la dihydrochalcone n'avait pas d'influence sur

l'activité pour les analogues de balsacone, ce n'est pas le cas pour les produits de prénylation. Il pourrait donc être intéressant de comparer les activités de différentes dihydrochalcones prénylées.

En résumé, l'activité antibiotique des dihydrochalcones synthétisées a été évaluée sur *Escherichia coli*, une souche bactérienne Gram-négative et sur *Staphylococcus aureus*, une souche bactérienne Gram-positif. Les résultats sont exprimés en concentration minimale inhibant 90 % de la croissance bactérienne (CMI₉₀). La gentamycine a été utilisée comme témoin positif. Les résultats montrent que toutes les dihydrochalcones sont inactives contre *E. coli*. Au contraire, les dihydrochalcones cinnamylées (**39-43**), benzylées (**44-47**) et géranylée (**49**) sont actives contre *S. aureus* avec des CMI₉₀ variant entre 2,34 et 20 µM. Les composés les plus actifs sont les dihydrochalcones cinnamylée **43** (CMI₉₀ = 2,6 µM) et benzylée **47** (CMI₉₀ = 2,3 µM) qui contiennent un chlore. Finalement, la dihydrochalcone géranylée **49** est également parmi les composés les plus actifs avec une CMI₉₀ de 2,5 µM.

CHAPITRE 3

PARTIE EXPERIMENTALE

3.1 STRATEGIE DE SYNTHESE

L'enjeu de cette maîtrise a été de synthétiser à l'aide d'un précurseur commun, qui a été la néohespéridine dihydrochalcone déglycosylée, des analogues de balsacone, d'uvarétine et d'érioschalcone. Pour cela, certains alcools utilisés ont été préalablement synthétisés à partir de leur acide correspondant tandis que les autres ont été d'origine commerciale. De plus, la néohespéridine dihydrochalcone déglycosylée a été obtenue après hydrolyse de la néohespéridine dihydrochalcone glycosylée commerciale. Une fois tous les réactifs obtenus, il a été possible de réaliser l'hémisynthèse mise au point afin d'obtenir les composés d'intérêts (Figure 16).

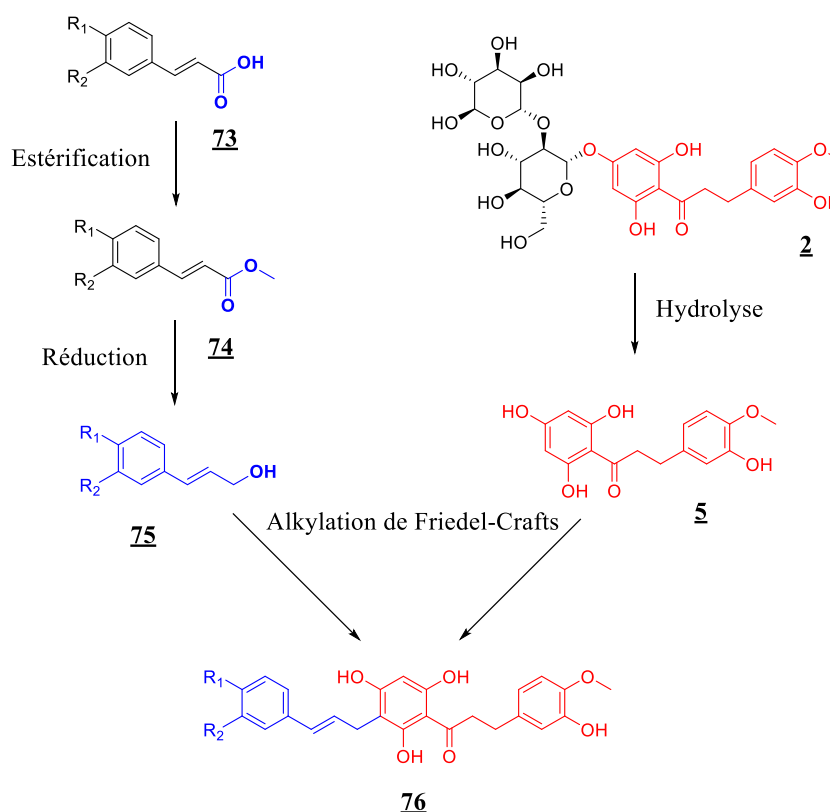


Figure 16 : Stratégie de synthèse (exemple pour les alcools cinnamiques).

3.2 CIBLES MOLÉCULAIRES

Lors de ce projet, cinq alcools allyliques, quatre alcools benzyliques et trois alcools prényliques illustrés à la Figure 13 ont été utilisés pour la préparation des analogues.

3.3 MATÉRIELS ET MÉTHODES

3.3.1 REMARQUES GÉNÉRALES

Toutes les réactions se faisant dans des conditions anhydres ont été effectuées sous atmosphère d'argon. Les solvants et réactifs sensibles à l'eau et à l'air ont été introduits à l'aide d'une seringue purgée à l'argon. Les réactifs commerciaux achetés chez différents fournisseurs (Sigma-Aldrich, Alfa Aesar, Oakwood et Chemical et Carbosynth) dont les puretés étaient comprises entre 98 et 99 % n'ont pas été purifiés. Les réactions réalisées à reflux ont été chauffées à l'aide d'une plaque Ika® RCT basic avec thermomètre intégré (modèle RCT B S1). Du CO₂ à l'état solide a été utilisé pour les réactions réalisées à -78 °C.

Tous les réactifs ont été pesés à l'aide d'une balance Mettler Toledo de type New classic MF (MS304S/c3) ce qui a permis d'avoir une précision de $4 \cdot 10^{-4}$ mg. Les échantillons HPLC ont été filtrés à l'aide d'une seringue de 1 mL de la marque Becton, Dickinson and Company dans des vials HPCL ambré de 2 mL de chez Canadian Life Science. Les solvant HPLC qui ont été utilisés sont du méthanol de grade HPLC de chez Fisher Scientific ainsi que de l'eau distillée, déminéralisée et filtrée.

3.3.2 CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES

Les suivis de réaction et de colonne ont été faits sur des plaques CCM MilliporeSigma, qui sont des plaques Silica gel d'épaisseur 200 μm , de taille de pore 60 Å et d'indice de fluorescence F254. Les plaques ont été révélées à l'ultraviolet (UV) (254 nm) puis lorsque nécessaire avec du H_2SO_4 20 % méthanol, séchées 5 minutes au four Heratherm™ (Thermoscientifique) à 100 °C.

Les purifications des produits ont été réalisées avec une colonne chromatographie en phase inverse sur une basse pression à l'aide de cartouche C18 SiliaSep de 40 g, de taille de pores 60 Å, de taille de particules 40-63 μm du fournisseur Silicycle ou avec une HPLC préparative de la marque Agilent série 1100 en utilisant une colonne C18 Kinetex de taille de pores 100 Å, de longueur et de diamètre intérieur 250 x 21,2 mm, et de taille de particules 5 μm de la marque Phenomenex.

3.3.3 INSTRUMENTATION

Les spectres RMN ont été réalisés avec un spectromètre RMN Bruker 400 MHz (^1H à 400,13 MHz, ^{13}C à 100,61 MHz) équipé d'une sonde QNP de 5 mm. Les analyses 1D : ^1H , ^{13}C , DEPT-135 et 2D : COSY, HSQC, HMBC ont permis l'élucidation structurale de tous les produits obtenus. Le déplacement chimique a été rapporté en partie par million (δ , ppm) en utilisant le pic de solvant non deutéré résiduel ou le TMS comme référence. Les constantes de couplages ont été rapportées en Hertz (J , Hz). Les signaux ont été assignés selon le code suivant : Br (broad), m (multiplet), s (singulet), d (doublet), t (triplet), m (multiplet), dd (doublet de doublets).

Les spectres de masse exacte à haute résolution (HRMS) ont été exécutés par Plateforme analytique pour molécules organiques de l'Université du Québec à Montréal (UQAM). Les valeurs fournies ont été rapportées selon le ratio m/z (masse/charge).

Les produits ont été analysés à l'aide d'une HPLC-MS Agilent de série 1100 (1200 pour les modules de dégazage et d'injection). Y sont retrouvés une pompe avec un cabinet de solvant (G1310A) équipé d'un dégazeur (G1379B), un compartiment à colonne (G1316A) ainsi qu'un module de détection ultra-violet (G1315B). Le MS associé est un Agilent (G1956B). La colonne utilisée a été une Kinetex C18 polaire, de taille de pores 100 Å, de longueur et de diamètre intérieur 250 x 4,6 mm, et de taille de particules 2,6 µm.

3.3.4 LOGICIELS

Les composés ont été nommés selon la nomenclature du logiciel *ChemBioDraw Ultra* (version 14.0.0.117). Les spectres RMN obtenus ont été analysés à l'aide du logiciel *MestReNova* (version 6.0.2-5475). Les chromatogrammes HPLC ont été acquis et traités sur le logiciel Chemstation (Agilent).

3.3.5 MÉTHODES D'ANALYSES ET DE SÉPARATIONS

La pureté des produits a été déterminé par HPLC-MS. Avec le solvant (A) de l'eau distillée déminéralisée et le solvant (B) du méthanol, la concentration de B est passé de 10 à 100 % en 30 minutes avec un débit de 1 mL/min.

Les séparations par colonnes chromatographiques effectuées à basse pression sur des colonnes phases inverses ou par HPLC préparative ont été réalisées avec les mêmes solvants que les HPLC-MS.

3.4 ÉVALUATION DES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES

Tous les composés obtenus ont été soumis à un test de cytotoxicité sur les lignées cellulaires suivantes : A-549 (cancer du poumon, ATCC#CCL-185), DLD-1 (cancer du côlon, ATCC#CCL-221) et WS-1 (fibroblastes de peau, ATCC#CRL-1502). Ils ont également été soumis à des tests antibactériens sur les souches de bactéries suivantes : *E. coli* (ATCC 25922, bactérie à Gram négatif) et *S. aureus* (ATCC 25923, bactérie à Gram positif).

3.4.1 ACTIVITÉS CYTOTOXIQUES

L'activité cytotoxique a été évaluée en utilisant une méthode à la résazurine, mesurant l'activité cellulaire par fluorescence. Les cellules ont étéensemencées dans des plaques de 96 puits. Après une adhésion des cellules durant 24h, les extraits ont été ajoutés à 8 concentrations différentes. Après 48h, puis 1h d'incubation à 37 °C, les mesures ont été prises à l'aide d'un fluorimètre (Fluoroskan Ascent FL) en utilisant une longueur d'onde d'excitation de 530 et d'émission de 590 nm. Le test de la résazurine a permis de mesurer l'activité cellulaire par fluorescence. Les cellules vivantes ont transformé la résazurine en un produit fluorescent, la résorufine. La quantité de résorufine a alors été proportionnelle à l'activité métabolique des cellules dans chaque puits. La mesure du signal de fluorescence a donc permis de quantifier la cytotoxicité.

Les plaques ont été par la suite vidées et placées au congélateur pour 24 h. Une fois sorties du congélateur, 100 µL d'une solution de SDS 0.01 % ont été ajoutés et les plaques ont été incubées à température pièce pendant 3 h avant de retourner au congélateur pour 24 h. Une fois les plaques décongelées, 100 µL d'une solution de Hoechst 33342 ont été ajoutés. Les plaques ont par la suite été incubées dans le noir pour 2 h à température pièce avant d'être lues au fluorimètre aux longueurs d'excitation et d'émission respectivement de 355 nm et 460 nm. Les résultats sont exprimés en concentration qui inhibe 50 % la croissance cellulaire comparativement aux cellules non traitées (IC₅₀).

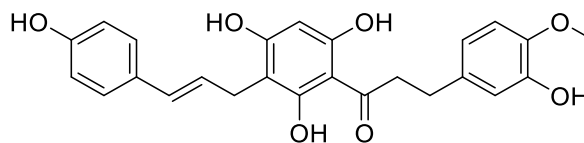
3.4.2 ACTIVITÉS ANTIBACTÉRIENNES

L'activité antibactérienne a été évaluée en utilisant une méthode de microdilution. Les bactéries ont étéensemencées dans des microplaques à fond plat à 96 puits (BD Falcon) dans 100 μ L de bouillon nutritif (BD) puis ont été traitées avec les composés dilués dans du DMSO à des différentes concentrations (100 μ L par puit). Les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 h. L'absorbance a ensuite été mesurée à l'aide d'un lecteur de plaque MultiskanGO automatisé (Thermo, Labsystems) en utilisant des longueurs d'onde de 600 nm pour *E. coli* et *S. aureus*. L'activité antibiotique a été exprimée en concentration maximale de composés inhibant la croissance bactérienne de 90 % (CMI₉₀).

3.5 PRÉPARATION DES COMPOSÉS SYNTHÉTISÉS

Les caractérisations ainsi que les modes opératoires pour chacun des composés et chacune des réactions seront présentés dans cette partie 3.5. L'aspect et la couleur des composés ont été indiqués. De plus, les valeurs des résultats des caractérisations, à savoir le rapport frontal (Rf), l'HRMS, la RMN ¹H et la RMN ¹³C, sont également présentés.

(E)-3-(3-hydroxy-4-méthoxyphényl)-1-(2,4,6-trihydroxy-3-(3-(4-hydroxyphényl)allyl)phényl)propan-1-one



Formule chimique : $C_{25}H_{24}O_7$
Masse molaire : $436,46 \text{ g.mol}^{-1}$

39

L'alcool para-coumarylique (14,7 mg, 0,0979 mmol, 1 eq) et la dihydrochalcone (**5**) (120 mg, 0,395 mmol, 4 eq) sont dissouts dans l'acétonitrile (3 mL). L'APTS (4 mg, 0,020 mmol, 0,20 eq) est additionné et le mélange est agité à température ambiante pendant 3 h. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) puis lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (20 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 fois 20 mL). La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (C18, MeOH : H_2O gradient 63 à 73 % en MeOH) pour conduire au composé **39** (29,5 mg, 69 %) sous forme d'une poudre blanche orangée.

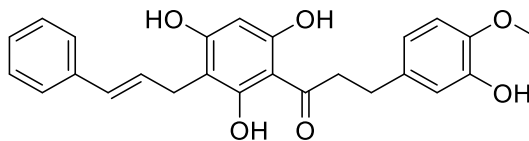
CCM : $R_f = 0,60$ (Silice, CHCl_3 / MeOH, 9 : 1).

HRMS (ESI) m/z calculé pour $C_{25}H_{25}O_7$ $[\text{M-H}]^+$ 437.1595, trouvé 437.1594.

RMN ^1H (400 MHz, MeOD) : δ 7,13 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 2H), 6,79 (d, $J = 8.2 \text{ Hz}$, 1H), 6,71 (d, $J = 1.7 \text{ Hz}$, 1H), 6,69 – 6,62 (m, 3H), 6,26 (d, $J = 15.8 \text{ Hz}$, 1H), 6,11 (dt, $J = 6.4, 15.5 \text{ Hz}$, 1H), 5,95 (s, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,36 (d, $J = 6.2 \text{ Hz}$, 2H), 3,28 (t, $J = 8.2 \text{ Hz}$, 2H), 2,83 (t, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 2H).

RMN ^{13}C (101 MHz, MeOD) : δ 206.4, 165.1, 163.9, 161.7, 157.3, 147.3, 147.2, 136.2, 131.3, 130.1, 128.0, 126.8, 120.5, 116.5, 116.1, 112.8, 106.6, 105.2, 94.9, 56.5, 47.2, 31.7, 26.4.

1-(3-cinnamyl-2,4,6-trihydroxyphényl)-3-(3-hydroxy-4-méthoxyphényl)propan-1-one



Formule chimique : $C_{25}H_{24}O_6$

Masse molaire : $420,46 \text{ g.mol}^{-1}$

40

L'alcool cinnamique (13,4 mg, 0,100 mmol, 1 eq) et la dihydrochalcone (**5**) (122 mg, 0,400 mmol, 4 eq) sont dissouts dans l'acétonitrile (2 mL). L'APTS (2 mg, 0,010 mmol, 0,10 eq) est additionné et le mélange est agité à reflux pendant 2 h. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) puis lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (20 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 fois 20 mL). La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (C18, MeOH : H_2O gradient de 65 à 75 % de MeOH) pour conduire au composé **40** (30,1 mg, 72 %) sous forme d'une poudre blanche.

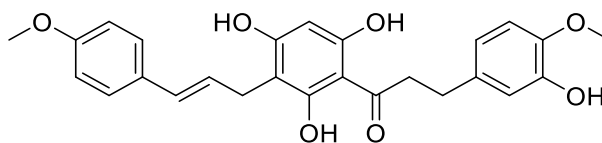
CCM : $R_f = 0,63$ (Silice, CHCl_3 / MeOH, 9 : 1).

HRMS (ESI) m/z calculé pour $C_{25}H_{24}O_6$ $[\text{M}-\text{H}]^+$ 421.1646, trouvé 421.1653.

RMN ^1H (400 MHz, MeOD) : δ 7.28 (d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 2H), 7.21 (t, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 2H), 7.11 (t, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H), 6.79 (d, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.65 (d, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 1H), 6.40 – 6.24 (m, 2H), 5.96 (s, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.40 (d, $J = 3.4 \text{ Hz}$, 2H), 3.29 (t, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 2H), 2.83 (t, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 2H).

RMN ^{13}C (101 MHz, MeOD) : δ 206.4, 165.2, 163.9, 161.8, 147.3, 147.2, 139.5, 136.2, 130.4, 129.8, 129.4, 127.5, 126.9, 120.5, 116.5, 112.8, 106.2, 105.2, 94.9, 56.5, 47.2, 31.7, 26.5.

(E)-3-(3-hydroxy-4-méthoxyphényl)-1-(2,4,6-trihydroxy-3-(3-(4-méthoxyphényl)allyl)phényl)propan-1-one



Formule chimique : $C_{26}H_{26}O_7$
Masse molaire : $450,49 \text{ g.mol}^{-1}$

41

L'alcool 4-méthoxycinnamique (17,8 mg, 0,108 mmol, 1 eq) et la dihydrochalcone (**5**) (130,8 mg, 0,432 mmol, 4 eq) sont dissouts dans l'acétonitrile (3 mL). L'APTS (4 mg, 0,020 mmol, 0,20 eq) est additionné et le mélange est agité à température ambiante pendant 3 h. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) puis lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (20 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 fois 20 mL). La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (C18, MeOH : H₂O gradient 65 à 75 % en MeOH) pour conduire au composé **41** (23,8 mg, 49 %) sous forme d'une poudre jaune.

CCM : $R_f = 0,46$ (Silice, CHCl_3 / MeOH, 9 : 1).

HRMS (ESI) m/z calculé pour $C_{26}H_{27}O_7$ $[\text{M}-\text{H}]^+$ 451.1751, trouvé 451.1753.

RMN ^1H (400 MHz, MeOD) : δ 7.20 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.83 – 6.75 (m, 3H), 6.71 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.65 (dd, $J = 1.8, 8.1$ Hz, 1H), 6.28 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 6.16 (dt, $J = 6.4, 15.9$ Hz, 1H), 5.95 (s, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.37 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.28 (t, $J = 8.2$ Hz, 2H), 2.83 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H).

RMN ^{13}C (101 MHz, MeOD) : δ 206.4, 165.1, 163.9, 161.8, 160.0, 147.3, 147.2, 136.2, 132.3, 129.9, 128.0, 127.6, 120.5, 116.5, 114.8, 112.9, 106.5, 105.2, 94.9, 56.5, 55.6, 47.2, 31.7, 26.4.

(E)-1-(3-(3-(3,4-diméthoxyphényl)allyl)-2,4,6-trihydroxyphényl)-3-(3-hydroxy-4-méthoxyphényl)propan-1-one



Formule chimique : $C_{27}H_{28}O_8$

Masse molaire : $480,51 \text{ g.mol}^{-1}$

42

L'alcool diméthoxycinnamique (20,1 mg, 0,104 mmol, 1 eq) et la dihydrochalcone (**5**) (125,3 mg, 0,412 mmol, 4 eq) sont dissouts dans l'acétonitrile (2 mL). L'APTS (4 mg, 0,020 mmol, 0,20 eq) est additionné et le mélange est agité à température ambiante pendant 3 h. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) puis lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (20 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 fois 20 mL). La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (C18, MeOH : H_2O gradient 60 à 70 % en MeOH) pour conduire au composé **42** (30,63 mg, 61 %) sous forme d'une poudre blanche.

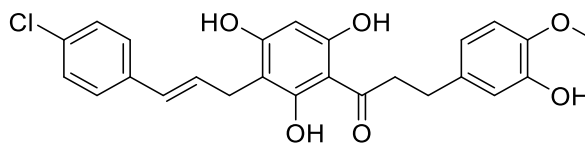
CCM : $R_f = 0,5$ (Silice, CHCl_3 / MeOH, 9 : 1).

HRMS (ESI) m/z calculé pour $C_{27}H_{29}O_8$ $[\text{M-H}]^+$ 481.1857, trouvé 481.1859.

RMN ^1H (400 MHz, MeOD) : δ 13.81 (br s, 1H), 8.04 (br s, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.86 – 6.78 (m, 3H), 6.72 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.67 (dd, $J = 1.9, 8.2$ Hz, 1H), 6.26 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 6.19 (dt, $J = 5.8, 15.8$ Hz, 1H), 5.98 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.36 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.28 (t, $J = 8.2$ Hz, 2H), 2.82 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H).

RMN ^{13}C (101 MHz, MeOD) : δ 206.0, 164.9, 162.4, 160.6, 150.1, 149.3, 146.8, 146.4, 135.9, 131.8, 130.0, 127.2, 120.4, 119.6, 115.9, 112.6, 112.5, 109.6, 106.2, 105.1, 94.9, 56.6, 56.2, 56.1, 46.7, 30.6, 26.0.

(E)-1-(3-(3-(4-chlorophényl)allyl)-2,4,6-trihydroxyphényl)-3-(3-hydroxy-4-méthoxyphényl)propan-1-one



Formule chimique : $C_{25}H_{23}ClO_6$

Masse molaire : $454,90 \text{ g.mol}^{-1}$

43

L'alcool 4-chlorocinnamique (18,4 mg, 0,108 mmol, 1 eq) et la dihydrochalcone (**5**) (65,6 mg, 0,216 mmol, 2 eq) sont dissouts dans l'acétonitrile (2 mL). L'APTS (3,4 mg, 0,020 mmol, 0,20 eq) est additionné et le mélange est agité à reflux pendant 2 h. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) puis lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (20 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 fois 20 mL). La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (C18, MeOH : H_2O gradient 62 % en MeOH) pour conduire au composé **43** (13,1 mg, 29 %) sous forme d'une poudre blanche.

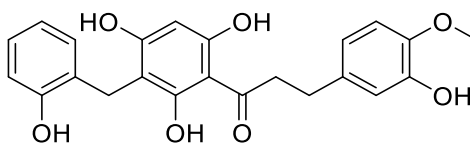
CCM : $R_f = 0,4$ (Silice, CHCl_3 / MeOH, 9 : 1).

HRMS (ESI) m/z calculé pour $C_{25}H_{23}ClO_6$ $[M-H]^+$ 455.1255, trouvé 45.1256.

RMN ^1H (400 MHz, MeOD) : δ 7.26 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.22 (s, 1H), 7.19 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.65 (dd, $J = 1.9, 8.2$ Hz, 1H), 6.39 – 6.25 (m, 2H), 5.96 (s, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.39 (d, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.28 (t, $J = 8.2$ Hz, 2H), 2.82 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H).

RMN ^{13}C (101 MHz, MeOD) : δ 206.5, 164.0, 162.0, 147.2, 138.3, 136.2, 133.0, 130.9, 130.1, 129.4, 129.1, 128.6, 128.3, 120.6, 116.5, 112.9, 106.0, 105.2, 95.0, 56.5, 47.1, 31.7, 26.4.

3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-1-(2,4,6-trihydroxy-3-(2-hydroxybenzyl)phényl)propan-1-one



Formule chimique : $C_{23}H_{22}O_7$

Masse molaire : $410,42 \text{ g.mol}^{-1}$

44

L'alcool 2-hydroxybenzylique (12,5 mg, 0,100 mmol, 1 eq) et la dihydrochalcone (**5**) (60,2 mg, 0,200 mmol, 2 eq) sont dissouts dans l'acétonitrile (3 mL). L'APTS (3,4 mg, 0,020 mmol, 0,20 eq) est additionné et le mélange est agité à reflux pendant 2 h. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) puis lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (20 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 fois 20 mL). La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (C18, MeOH : H_2O gradient 62 à 66 % en MeOH) pour conduire au composé **44** (25,0 mg, 61 %) sous forme d'une poudre jaune.

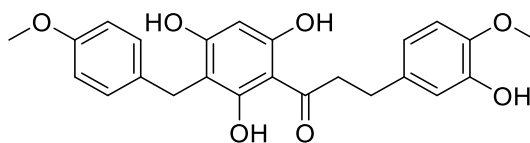
CCM : $R_f = 0,4$ (Silice, CHCl_3 / MeOH, 9 : 1).

HRMS (ESI) m/z calculé pour $C_{23}H_{22}O_7$ $[\text{M}-\text{H}]^+$ 411.1435, trouvé 411.1438.

RMN ^1H (400 MHz, MeOD) : δ 7.21 (d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.03 (t, $J = 7.0 \text{ Hz}$, 1H), 6.84 – 6.75 (m, 3H), 6.72 (d, $J = 1.7 \text{ Hz}$, 1H), 6.66 (dd, $J = 1.5, 8.1 \text{ Hz}$, 1H), 5.99 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.76 (s, 2H), 3.28 (t, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 2H), 2.81 (t, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 2H).

RMN ^{13}C (101 MHz, MeOD) : δ 206.3, 163.9, 162.4, 161.2, 154.6, 146.8, 146.3, 135.8, 131.5, 128.2, 127.8, 121.1, 120.4, 116.1, 115.8, 112.5, 107.0, 105.1, 95.5, 56.6, 46.6, 30.6, 22.8.

3-(3-hydroxy-4-méthoxyphényl)-1-(2,4,6-trihydroxy-3-(4-méthoxybenzyl)phényl)propan-1-one



Formule chimique : $C_{24}H_{24}O_7$

Masse molaire : $424,45 \text{ g.mol}^{-1}$

45

L'alcool 4-méthoxybenzylique (14,7 mg, 0,106 mmol, 1 eq) et la dihydrochalcone (**5**) (128,7 mg, 0,426 mmol, 4 eq) sont dissouts dans l'acétonitrile (3 mL). L'APTS (4 mg, 0,020 mmol, 0,20 eq) est additionné et le mélange est agité à température ambiante pendant 3 h. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) puis lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (20 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 fois 20 mL). La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (C18, MeOH : H_2O gradient 68 à 78% en MeOH) pour conduire au composé **45** (16,4 mg, 36%) sous forme d'une poudre blanche.

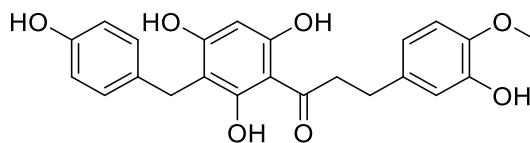
CCM : $R_f = 0,46$ (Silice, CHCl_3 / MeOH, 9 : 1).

HRMS (ESI) m/z calculé pour $C_{24}H_{25}O_7$ $[\text{M}-\text{H}]^+$ 425.1595, trouvé 425.1586.

RMN ^1H (400 MHz, MeOD) : δ 7.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.74 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.67 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.61 (dd, $J = 1.6, 8.3$ Hz, 1H), 5.90 (s, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.73 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.24 (t, $J = 8.2$ Hz, 2H), 2.78 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H).

RMN ^{13}C (101 MHz, MeOD) : δ 206.4, 165.2, 163.9, 161.7, 158.9, 147.3, 147.2, 136.2, 135.5, 130.4, 120.5, 116.5, 114.2, 112.8, 108.3, 105.2, 94.8, 56.5, 55.6, 47.2, 31.7, 27.8.

3-(3-hydroxy-4-méthoxyphenyl)-1-(2,4,6-trihydroxy-3-(4-hydroxybenzyl)phényl)propan-1-one



Formule chimique : $C_{23}H_{22}O_7$

Masse molaire : $410,42 \text{ g.mol}^{-1}$

46

L'alcool 4-hydroxybenzylique (12,5 mg, 0,100 mmol, 1 eq) et la dihydrochalcone (**5**) (60,8 mg, 0,200 mmol, 2 eq) sont dissouts dans l'acétonitrile (2 mL). L'APTS (3,4 mg, 0,020 mmol, 0,20 eq) est additionné et le mélange est agité à reflux pendant 2 h. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) puis lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (20 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 fois 20 mL). La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (C18, MeOH : H_2O gradient 62 % en MeOH) pour conduire au composé **46** (30,3 mg, 74 %) sous forme d'une poudre jaune.

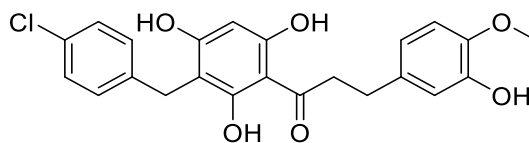
CCM : $R_f = 0,3$ (Silice, CHCl_3 / MeOH, 9 : 1).

HRMS (ESI) m/z calculé pour $C_{23}H_{22}O_7$ $[\text{M}-\text{H}]^+$ 411.1437, trouvé 411.1438.

RMN ^1H (400 MHz, MeOD) : δ 7.07 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.79 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H) ; 6.71 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.68 – 6.57 (m, 3H), 5.94 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.73, (s, 2H), 3.28 (t, $J = 8.3$ Hz, 2H), 2.82 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H).

RMN ^{13}C (101 MHz, MeOD) : δ 206.4, 165.2, 163.9, 161.7, 155.8, 147.3, 147.2, 136.2, 134.4, 130.4, 120.5, 116.5, 115.6, 112.9, 108.5, 105.2, 94.9, 56.5, 47.2, 31.8, 27.8.

1-(3-(4-chlorobenzyl)-2,4,6-trihydroxyphényl)-3-(3-hydroxy-4-méthoxyphényl)propan-1-one



Formule chimique : $C_{23}H_{21}ClO_6$

Masse molaire : $428,87 \text{ g.mol}^{-1}$

47

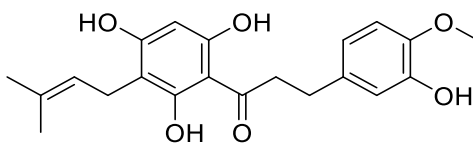
L'alcool 4-chlorobenzyle (14,3 mg, 0,100 mmol, 1 eq) et la dihydrochalcone (**5**) (61,8 mg, 0,200 mmol, 2 eq) sont dissouts dans l'acétonitrile (2 mL). L'APTS (3,4 mg, 0,020 mmol, 0,20 eq) est additionné et le mélange est agité à reflux pendant 2 h. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) puis lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (20 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 fois 20 mL). La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (C18, MeOH : H_2O gradient 60 à 75 % en MeOH) pour conduire au composé **47** (12,8 mg, 30 %) sous forme d'une poudre blanche.

CCM : $R_f = 0,57$ (Silice, CHCl_3 / MeOH, 9 : 1).

RMN ^1H (400 MHz, MeOD) : δ 7.31 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.17 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.79 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 6.65 (dd, $J = 1.6, 8.1$ Hz, 1H), 5.95 (s, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.79 (s, 2H), 3.28 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H), 2.82 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H).

RMN ^{13}C (101 MHz, MeOD) : δ 206.4, 163.9, 162.0, 147.3, 147.2, 142.8, 136.2, 131.8, 131.6, 120.5, 119.8, 116.5, 112.9, 111.4, 107.3, 105.2, 94.8, 56.5, 47.2, 31.7, 28.2.

3-(3-hydroxy-4-méthoxyphényl)-1-(2,4,6-trihydroxy-3-(3-méthylbut-2-en-1-yl)phényl)propan-1-one



Formule chimique : $C_{21}H_{24}O_6$
Masse molaire : $372,42 \text{ g.mol}^{-1}$

48

L'alcool 3-méthyl-2-buten-1-ol (10,2 μL , 0,100 mmol, 1 eq) et la dihydrochalcone (**5**) (121,0 mg, 0,400 mmol, 4 eq) sont dissouts dans l'acétonitrile (3 mL). L'APTS (3,4 mg, 0,020 mmol, 0,20 eq) est additionné et le mélange est agité à température ambiante pendant 2 h. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) puis lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (20 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 fois 20 mL). La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (C18, MeOH : H_2O gradient 60 à 100 % en MeOH) pour conduire au composé **48** (58 %) sous forme d'une poudre jaune (rendement obtenu en mélange avec le composé **71**).

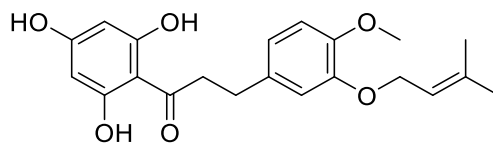
CCM : $R_f = 0,5$ (Silice, CHCl_3 / MeOH, 9 : 1).

HRMS (ESI) m/z calculé pour $C_{21}H_{24}O_6$ $[\text{M}-\text{H}]^+$ 373.1639, trouvé 373.1646.

RMN ^1H (400 MHz, MeOD) : δ 6.80 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.65 (dd, $J = 2.0, 8.3$ Hz, 1H), 5.90 (s, 1H), 5.17 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.27 (t, $J = 8.2$ Hz, 2H), 3.18 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H), 2.82 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H), 1.74 (s, 3H), 1.64 (s, 3H).

RMN ^{13}C (101 MHz, MeOD) : δ 205.1, 161.0, 145.4, 144.9, 135.7, 135.1, 121.8, 120.1, 114.8, 114.6, 110.8, 105.9, 104.9, 95.3, 56.1, 46.0, 30.3, 25.9, 21.7, 18.0.

3-(4-méthoxy-3-((3-méthylbut-2-en-1-yl)oxy)phényl)-1-(2,4,6-trihydroxyphényl)propan-1-one



Formule chimique : $C_{21}H_{24}O_6$
Masse molaire : $372,42 \text{ g.mol}^{-1}$

71

L'alcool 2-méthyl-3-buten-2-ol (10,2 μ , 0,100 mmol, 1 eq) et la dihydrochalcone (**5**) (62,0 mg, 0,200 mmol, 2 eq) sont dissouts dans l'acétonitrile (2 mL). L'APTS (3,4 mg, 0,020 mmol, 0,20 eq) est additionné et le mélange est agité à température ambiante pendant 3h. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) puis lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (20 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 fois 20 mL). La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (C18, MeOH : H_2O gradient 10 : 85 % en MeOH) pour conduire au composé **71** (58 %) sous forme d'une poudre blanche (rendement obtenu en mélange avec le composé **48**).

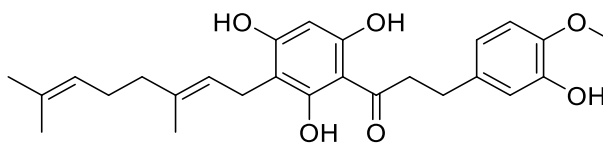
CCM : $R_f = 0,5$ (Silice, CHCl_3 / MeOH, 9 : 1).

HRMS (ESI) m/z calculé pour $C_{21}H_{24}O_6$ $[\text{M}-\text{H}]^+$ 373.1640, trouvé 373.1646.

RMN ^1H (400 MHz, MeOD) : δ 6.81 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.66 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 5.81 (s, 2H), 5.19 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.74 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.27 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 2.82 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 1.72 (s, 3H), 1.68 (s, 3H).

RMN ^{13}C (101 MHz, MeOD) : δ 206.2, 166.4, 165.9, 147.3, 147.2, 136.7, 136.2, 121.3, 120.5, 116.5, 112.9, 111.4, 105.2, 95.8, 56.5, 47.1, 38.4, 31.6, 25.8, 22.4, 17.8.

(E)-1-(3-(3,7-diméthylocta-2,6-dièn-1-yl)-2,4,6-trihydroxyphényl)-3-(3-hydroxy-4-méthoxyphényl)propan-1-one



Formule chimique : $C_{26}H_{32}O_6$

Masse molaire : $440,54 \text{ g.mol}^{-1}$

49

Le géraniol (18,0 μ , 0,100 mmol, 1 eq) et la dihydrochalcone (**5**) (61,0 mg, 0,200 mmol, 1 eq) sont dissouts dans l'acétonitrile (3 mL). L'APTS (13,6 mg, 0,080 mmol, 0,20 eq) est additionné et le mélange est agité à température ambiante pendant 3 h. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) puis lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (20 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 fois 20 mL). La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu brut est purifié par HPLC préparative (C18, MeOH : H_2O gradient 60 à 100 % en MeOH) pour conduire au composé **49** (31 %) sous forme d'une poudre blanche (rendement obtenu en mélange avec le composé **72**).

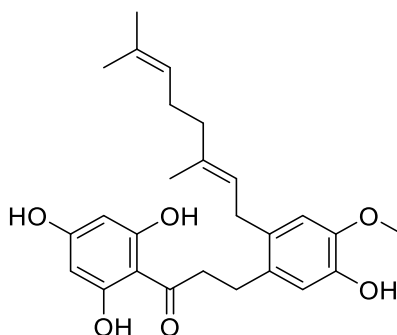
CCM : $R_f = 0,56$ (Silice, CHCl_3 / MeOH, 9 : 1).

HRMS (ESI) m/z calculé pour $C_{26}H_{32}O_6$ $[\text{M}-\text{H}]^+$ 441.2271, trouvé 441.2272.

RMN ^1H (400 MHz, MeOD) : δ 8.16 (br s, 1H), 7.61 (br s, 1H), 6.82 (d, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.67 (d, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.41 (br s, 1H), 5.95 (s, 1H), 5.13 (t, $J = 6.5 \text{ Hz}$, 1H), 5.05 (t, $J = 5.4 \text{ Hz}$, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.26 (t, $J = 7.8 \text{ Hz}$, 2H), 3.17 (d, $J = 6.5 \text{ Hz}$, 2H), 2.81 (t, $J = 7.4 \text{ Hz}$, 2H), 2.30 (br s, 1H), 2.23 – 1.90 (m, 3H), 1.72 (s, 3H), 1.61 (s, 3H), 1.55 (s, 3H).

RMN ^{13}C (101 MHz, MeOD) : δ 205.9, 164.7, 162.2, 160.2, 146.8, 146.4, 135.9, 135.6, 132.1, 125.2, 123.7, 120.5, 115.9, 112.6, 108.0, 105.1, 95.0, 56.7, 46.7, 40.3, 30.7, 27.3, 25.7, 21.8, 17.7, 16.2.

(E)-3-(2-(3,7-diméthyllocta-2,6-diène-1-yl)-5-hydroxy-4-méthoxyphényl)-1-(2,4,6-trihydroxyphényl)propan-1-one



Formule chimique : $C_{26}H_{32}O_6$
Masse molaire : 440,54

72

Le géraniol (18,0 μ , 0,100 mmol, 1 eq) et la dihydrochalcone (**5**) (61,0 mg, 0,200 mmol, 1 eq) sont dissouts dans l'acétonitrile (3 mL). L'APTS (13,6 mg, 0,080 mmol, 0,20 eq) est additionné et le mélange est agité à température ambiante pendant 3 h. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) puis lavé avec une solution aqueuse saturée de $NaHCO_3$ (20 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 fois 20 mL). La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu brut est purifié par HPLC préparative (C18, MeOH : H_2O gradient 60 à 100 % en MeOH) pour conduire au composé **72** (31 %) sous forme d'une poudre blanche (rendement obtenu en mélange avec le composé **49**).

CCM : $R_f = 0,56$ (Silice, $CHCl_3$ / MeOH, 9 : 1).

HRMS (ESI) m/z calculé pour $C_{26}H_{32}O_6$ $[M-H]^+$ 441.2269, trouvé 441.2272.

RMN 1H (400 MHz, Acétonitrile) : δ 10.90 (br s, 2H), 7.71 (br s, 1H), 6.73 (s, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.25 (br s, 1H), 5.85 (s, 2H), 5.19 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H), 5.07 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.26 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.19 (t, $J = 8.2$ Hz, 2H), 2.80 (t, $J = 8.2$ Hz, 2H), 2.04 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.98 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.68 (s, 3H), 1.62 (s, 3H), 1.55 (s, 3H).

RMN ^{13}C (101 MHz, Acétonitrile) : δ 205.9, 165.1, 164.7, 146.3, 145.1, 136.2, 133.2, 132.2, 131.8, 125.1, 124.7, 116.6, 114.0, 110.9, 105.2, 95.8, 56.7, 46.2, 40.3, 31.9, 27.5, 27.3, 25.7, 17.7, 16.3.

CONCLUSION

L'objectif principal de ce projet de maîtrise était de synthétiser, à partir d'un précurseur commun, différentes familles de composés naturels aux activités biologiques variées. En effet, les composés ont tous été synthétisés à partir d'une dihydrochalcone commune, la néohespéridine déglycosylée et de cinq alcools cinnamiques, quatre alcools benzyliques et trois alcools prényliques en fonction du composé ciblé. Les trois familles de composés visés étaient : les balsacones, les uvarétines ainsi que les érioschalcones. Chacune de ces familles présente une structure de dihydrochalcone substituée respectivement par un groupement cinnamique, benzylique et phénylique. L'approche héli-synthétique mise en œuvre était une alkylation de Friedel-Crafts.

Afin de réaliser cette hémisynthèse, les précurseurs ont été synthétisés au préalable. Une hydrolyse de la néohespéridine dihydrochalcone a permis d'obtenir la néohespéridine déglycosylée en quantité suffisante avec un rendement de 75 %. De plus, deux alcools ont également été synthétisés à partir de leur acide correspondant suite à une étape d'estérification puis une étape de réduction pour obtenir un rendement global sur les deux étapes de 89 %.

Tous les composés obtenus ont été synthétisés selon la même approche d'hémisynthèse. Cependant quelques conditions ont été adaptées comme la température, la durée ou encore le nombre d'équivalents de dihydrochalcone. Ces hémisynthèses ont permis

d'obtenir des rendements allant de 30 % à 70 % pour les cinq composés cinnamylés, soit les composés faisant partie de la famille des balsacones. Les rendements les plus faibles ont été obtenus avec la synthèse des composés portant un halogène (chlore) ou un *O*-méthyl car ces derniers sont moins réactifs. Des résultats similaires ont également été obtenus pour les composés portant un groupement benzylique, soit ceux faisant partie de la famille des uvarétines, pour qui les rendements obtenus ont varié entre 36 % et 74 % et pour qui les rendements les plus faibles ont été attribuables au composé chloré et au composé *O*-méthylé. Pour finir, les rendements obtenus pour la famille des érioschalcones ont été modestes même s'ils ont été déterminés sur des extraits comportant un sous-produit et dont les ratios ont été présentés dans ce rapport. Le co-produit a résulté de l'alkylation d'une fonction hydroxyle et ces mélanges ont été obtenus avec des rendements allant de 30,7 % à 58,1 %.

En comparant les activités biologiques à ceux présents dans la littérature, pour la famille des balsacones, seul le composé chloré a démontré une activité contre *S. aureus* supérieure à celle de la balsacone A, c'est-à-dire du composé naturel, avec un MIC₉₀ de $2,6 \pm 0,4$ μ M contre 6,3 μ M pour la balsacone A. La dihydrochalcone employée n'affecte que modérément les activités biologiques pour cette famille. Les activités biologiques obtenues pour les autres familles n'ont pas été en accord avec la littérature. Effectivement, les composés benzylés et prénylés ont présenté des activités antibactériennes contre *S. aureus*, soit une bactérie à Gram positif, tandis que dans la littérature, ils ont été recensés respectivement comme des agents cytotoxiques et antibactériens contre les bactéries à Gram négatif. Cependant, les composés synthétisés étant des analogues et non des copies

conformes des produits naturels, ces résultats ne paraissent pas incohérents. Il est facile d'émettre l'hypothèse selon laquelle la dihydrochalcone serait responsable de l'activité de ces nouveaux composés. Les composés faisant partie de la famille des uvarétines ont démontré des activités contre *S. aureus* avec des MIC₉₀ allant de $2,34 \pm 0,07$ à $20 \pm 0,1$ μM . Les deux composés les plus actifs ont été le composé chloré et le composé *O*-méthylé, avec des MIC₉₀ respectifs de $2,34 \pm 0,07$ et $4,2 \pm 0,5$ μM . Pour les composés faisant partie de la famille des érioschalcone, un seul composé a présenté une activité intéressante contre *S. aureus*, il s'agit d'un composé *C*-géranylé ayant un MIC₉₀ de $2,5 \pm 0,3$ μM .

Afin d'améliorer ce sujet d'étude, il serait intéressant, dans un premier temps, d'optimiser les conditions de l'hémisynthèse en ce qui concerne les composés prénylés, pour qui les rendements étaient inférieurs à 60 % et plus particulièrement pour faire la synthèse du composé *C*-géranylé, car il s'agissait du composé le plus actif de cette famille. Par la suite, il pourrait être intéressant d'évaluer l'activité biologique de tous les composés actifs contre *S. aureus* pour les bactéries résistantes comme le SARM. Et pour finir, des hémisynthèses de composés *C*-prénylés à partir de différentes dihydrochalcones pourraient être envisagées. Si effectivement la dihydrochalcone est responsable de l'activité, il serait possible qu'il existe une dihydrochalcone pour laquelle le composé final serait actif contre des bactéries à Gram négatif et à Gram positif, c'est-à-dire ayant un spectre d'action plus large.

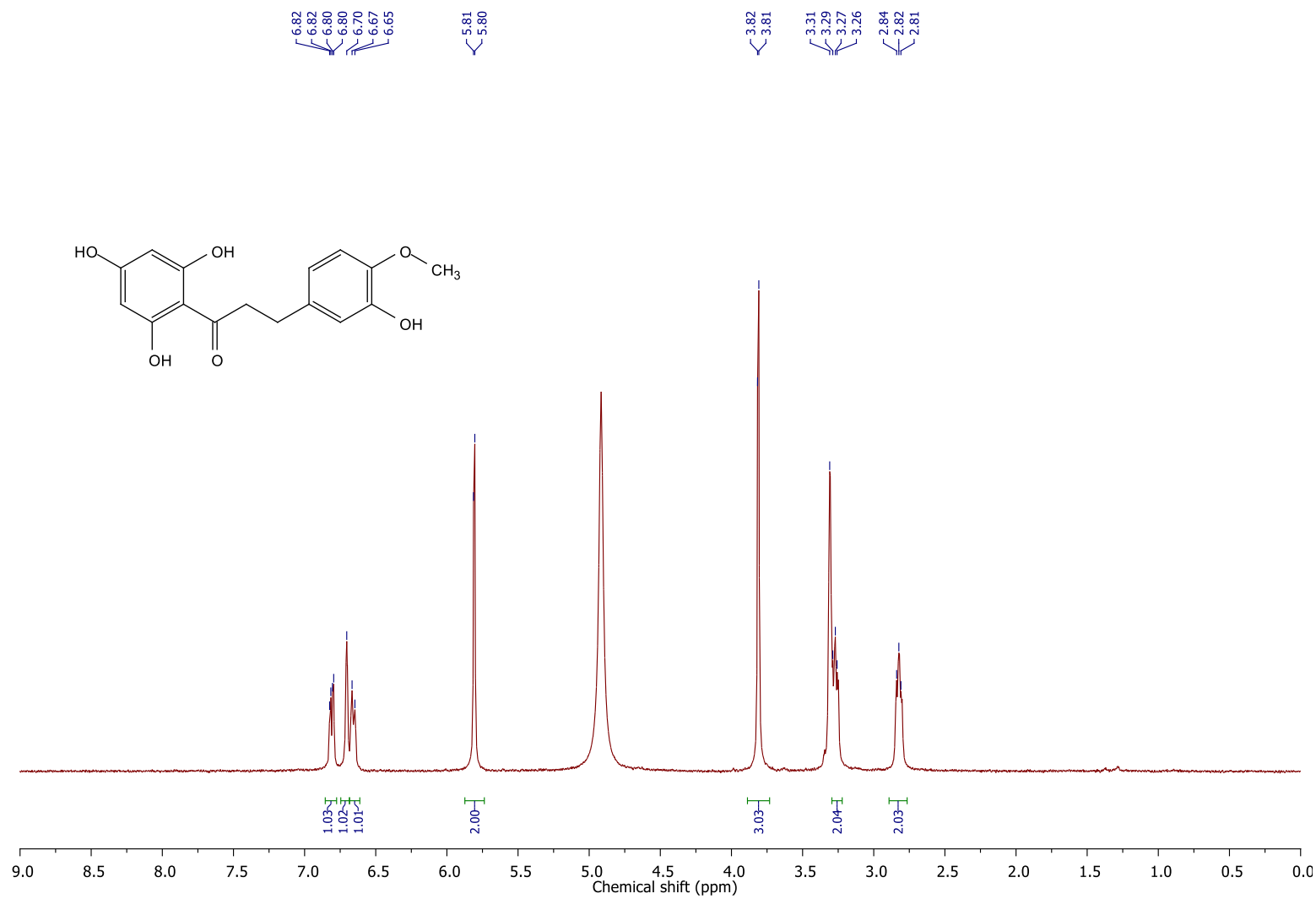
BIBLIOGRAPHIE

1. Kuttruff, C. A.; Eastgate, M. D.; Baran, P. S., Natural product synthesis in the age of scalability. *Natural product reports* **2014**, *31* (4), 419-432.
2. Lavoie, S.; Legault, J.; Simard, F.; Chiasson, É.; Pichette, A., New antibacterial dihydrochalcone derivatives from buds of *Populus balsamifera*. *Tetrahedron Letters* **2013**, *54* (13), 1631-1633.
3. Simard, F.; Gauthier, C.; Legault, J.; Lavoie, S.; Mshvildadze, V.; Pichette, A., Structure elucidation of anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) flavonoids from balsam poplar buds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2016**, *24* (18), 4188-4198.
4. Burmaoğlu, S., Total Syntheses of Balsacone B and Balsacone C. *Journal of the Turkish Chemical Society* **2017**, 725-725.
5. Alsarraf, J.; Bilodeau, J.-F.; Legault, J.; Simard, F.; Pichette, A., Exploring the biomass-derived chemical space emerging from natural dihydrochalcones through the single-step hemisynthesis of antibacterial balsacones. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* **2020**, *8* (16), 6194 - 6199.
6. Hufford, C. D.; Lasswell, W. L., Uvaretin and isouvaretin. Two novel cytotoxic C-benzylflavanones from *Uvaria chamae* L. *The Journal of Organic Chemistry* **1976**, *41* (7), 1297 - 1298.
7. Nkunya, M. H.; Weenen, H.; Renner, C.; Waibel, R.; Achenbach, H., Benzylated dihydrochalcones from *Uvaria leptoclodon*. *Phytochemistry* **1993**, *32* (5), 1297-1300.
8. Cole, J. R.; Torrance, S. J.; Wiedhopf, R. M., Uvaretin, a New Antitumor Agent from *Uvaria acuminata* (Annonaceae) *The Journal of Organic Chemistry* **1976**, *41* (10), 1852 - 1855.
9. Awouafack, M. D.; Kouam, S. F.; Hussain, H.; Ngamga, D.; Tane, P.; Schulz, B.; Green, I. R.; Krohn, K., Antimicrobial prenylated dihydrochalcones from *Eriosema glomerata*. *Planta Medica* **2008**, *74* (1), 50-54.
10. Arnason, T.; Hebda, R. J.; Johns, T., Use of plants for food and medicine by Native Peoples of eastern Canada. *Canadian Journal of Botany* **1981**, *59* (11), 2189-2325.
11. Drewes, S. E.; Horn, M. M.; Munro, O. Q.; Dhlamini, J. T. B.; Meyer, J. J. M.; Rakuambo, N. C., Pyrano-isoflavones with erectile-dysfunction activity from *Eriosema kraussianum*. *Phytochemistry* **2002**, *59* (7), 739 - 747.
12. Viel, C., Évolution des méthodes extractives et analytiques en phytochimie, du XVI^e siècle à la seconde moitié du XIX^e. *Revue d'Histoire de la Pharmacie* **2001**, *331*, 287 - 302.
13. Greenaway, W.; May, j.; Whatley, f. R., Flavonoid aglycones identified by gas chromatography-mass spectrometry in bud exudate of *Populus balsamifera*. *Journal of Chromatography* **1989**, *472*, 393-400.
14. Ghedira, K., Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* **2005**, *3* (4), 162-169.
15. Drewes, S. E.; Horn, M. M.; Munro, O. Q.; Dhlamini, J. T. B.; Meyer, J. J. M.; Rakuambo, N. C., Pyrano-isoflavones with erectile-dysfunction activity from *Eriosema kraussianum*. *Phytochemistry* **2002**, *59* (7), 739-747.

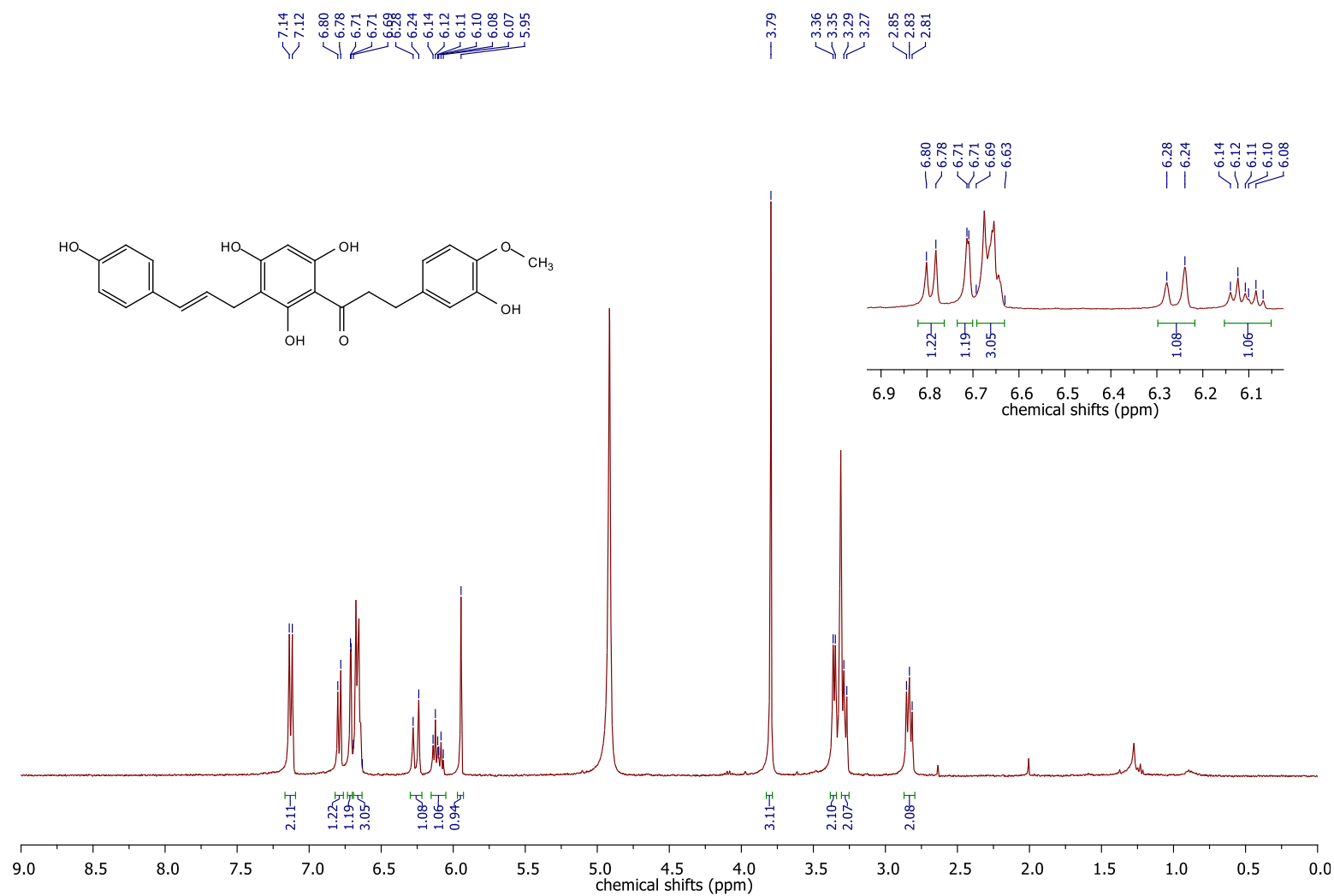
16. Lucia M. Conserva; Massayoshi Yoshida; Otto R. Gottlieb; Juan C. Martinez; Goitlieb, H. E., Iryantherins, lignoflavonoids of novel structural types from the *myristicaceae*. *Phytochemistry* **1990**, 29 (12), 3911 - 3918.
17. Gosch, C.; Halbwirth, H.; Stich, K., Phloridzin: biosynthesis, distribution and physiological relevance in plants. *Phytochemistry* **2010**, 71 (8-9), 838-843.
18. Dziedzic, S. Z.; Hudson, B. J. F.; Barnes, G., Polyhydroxydihydrochalcones as Antioxidants for Lard *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1985**, 33 (2), 244 - 246.
19. Karl, L. M. h.; Malterud, E.; Sund, R. B., Antioxidant Activity of Fruit Exudate and C-Methylated Dihydrochalcones from *Myrica gale*. *Planta Medica* **1995**, 61, 515 - 518.
20. Ehrenkranz, J. R. L.; Lewis, N. G.; Kahn, C. R.; Roth, J., Phlorizin: a review. *Diabetes/metabolism research and reviews* **2005**, 21, 31 - 38.
21. Horowitz, R. M.; Bruno, G., Dihydrochalcone derivatives and their use as sweetening agents. Google Patents: 1963.
22. Directive 94/35/ce du parlement européen et du conseil du 30 juin 1994 concernant les édulcorants destinés à être employés dans les denrées alimentaires. Journal officiel France, 1994; p 12.
23. Castillo, J.; Benavente, O.; José, A., Naringin and neohesperidin levels during development of leaves, flower buds, and fruits of *Citrus aurantium*. *Plant Physiology* **1992**, 99 (1), 67-73.
24. Ikan, R., *Natural Products: A Laboratory Guide*. Academic Press: Israël, 1991.
25. Côté, H.; Pichette, A.; Simard, F.; Ouellette, M.-E.; Ripoll, L.; Mihoub, M.; Grimard, D.; Legault, J., Balsacone c, a new antibiotic targeting bacterial cell membranes, inhibits clinical isolates of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (mrsa) without inducing resistance. *Frontiers in Microbiology* **2019**, 10 (2341).
26. Fini, J.-B.; Demeneix, B., Maladies neurologiques en lien avec l'environnement. *Environnement, Risques & Santé* **2017**, 2 (1), 14.
27. Akendengue, B.; Ngou-Milama, E.; Roblot, F.; Laurens, A.; Hocquemiller, R.; Grellier, P.; Frappier, F., Antiplasmodial activity of *Uvaria klaineana*. *Planta medica* **2002**, 68 (02), 167-169.
28. Nakatani, N.; Ichimaru, M.; Moriyasu, M.; Kato, T., Induction of Apoptosis in Human Promyelocytic Leukemia Cell Line HL-60 by C-Benzylated Dihydrochalcones, Uvaretin, Isouvaretin and Diuvaretin. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* **2004**, 28 (1), 83 - 86.
29. Hufford, C. D.; Lasswell, W. L., Uvaretin and isouvaretin. Two novel cytotoxic C-benzylflavanones from *Uvaria chamae* L. . *The Journal of Organic Chemistry* **1976**, 41 (7), 1297–1298.
30. Malterud, K. E.; Undheim, J.; Erdal, J. E., Synthesis of uvaretin, an antitumour and antimicrobial flavonoid. *Tetrahedron Letters* **1985**, 26 (39), 4807 - 4810.
31. Dallman, J.; Lansakara, A.; Nguyen, T.; Weeramange, C.; Hulangamuwa, W.; Rafferty, R. J., The Winding Road of the Uvaretin Class of Natural Products: From Total Synthesis to Bioactive Agent Discovery. *MedChemComm* **2019**.
32. Ma, W. G.; Fuzzati, N.; Li, Q. S.; Yang, C. R.; Stoeckli-Evans, H.; Hostettmann, K., Polyphenols from *Eriosema tuberosum*. *Phytochemistry* **1995**, 39 (5), 1049-1061.
33. Yu, X.; Li, S. M., Prenylation of Flavonoids by Using a Dimethylallyltryptophan Synthase, 7-DMATS, from *Aspergillus fumigatus*. *Chembiochem* **2011**, 12 (15), 2280-2283.

34. Krimen, L. I.; Cota, D. J., *Organic Reactions*. John Wiley and Sons, Inc.: 2011; p 213 - 325.
35. Tadigoppula, N.; Korthikunta, V.; Gupta, S.; Kancharla, P.; Khaliq, T.; Soni, A.; Srivastava, R. K.; Srivastava, K.; Puri, S. K.; Raju, K. S. R., Synthesis and insight into the structure–activity relationships of chalcones as antimalarial agents. *Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *56* (1), 31-45.

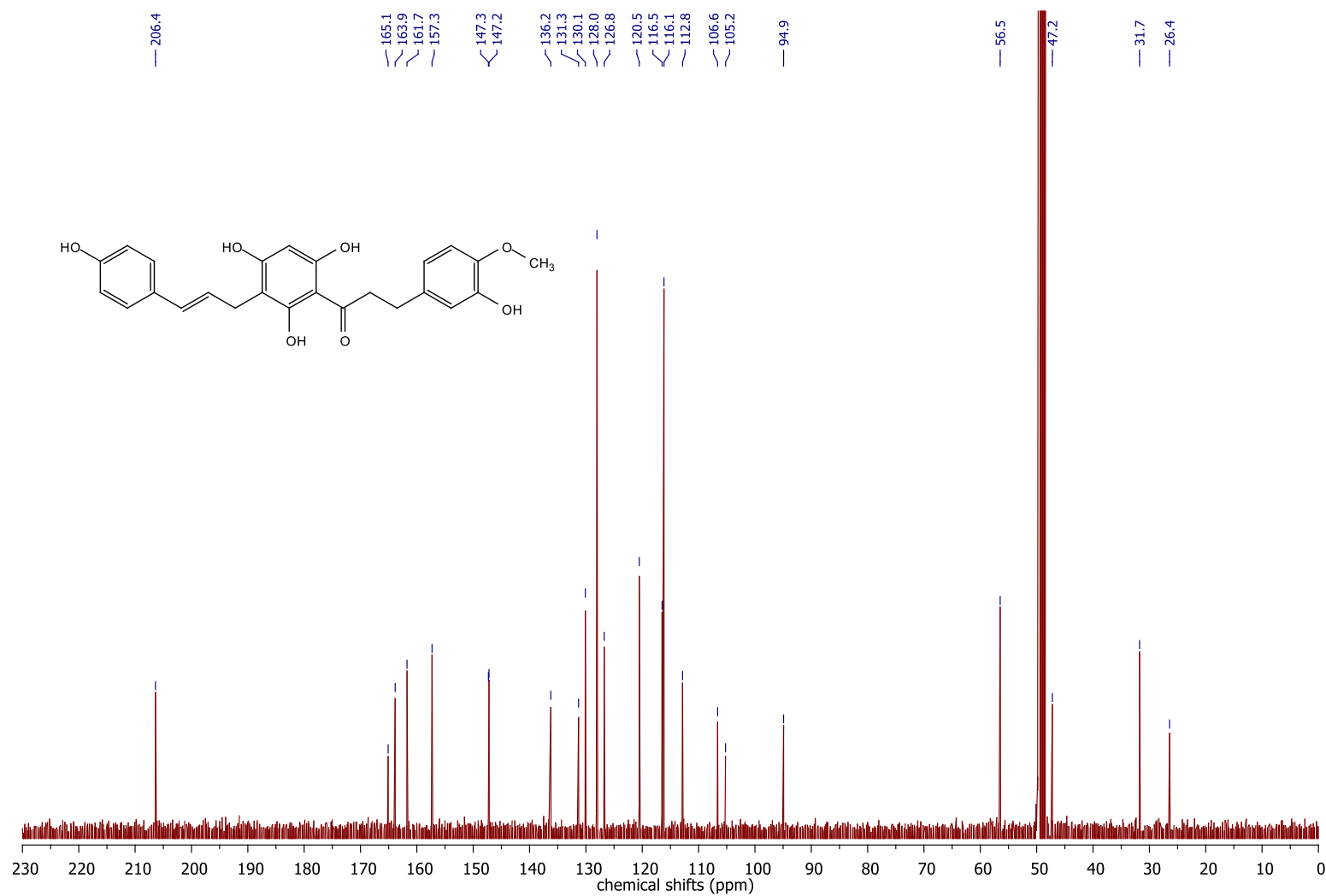
ANNEXES
SPECTRES RMN



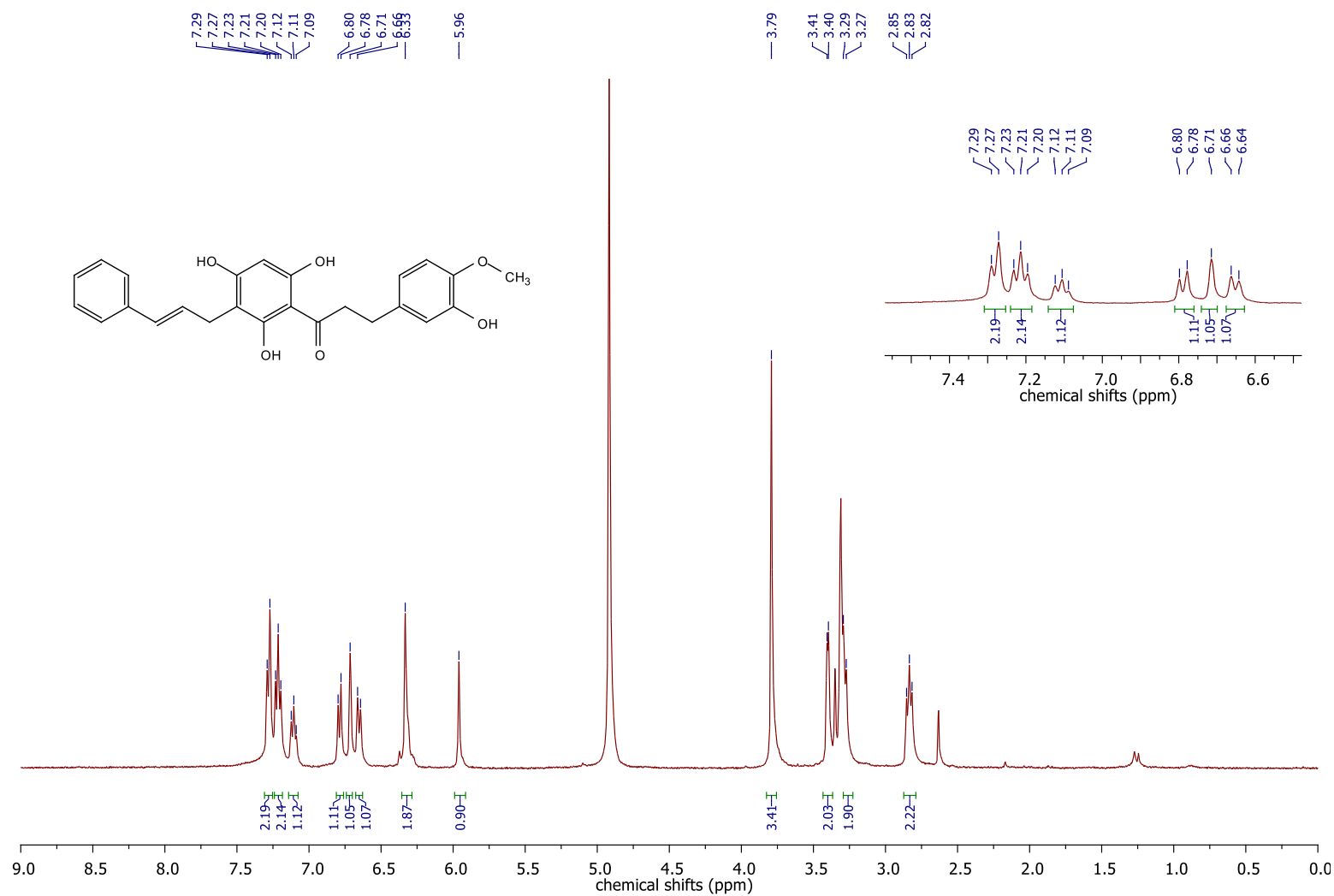
Annexe 1 : Spectre ¹H, 400 MHz, MeOD ; composé (**5**)



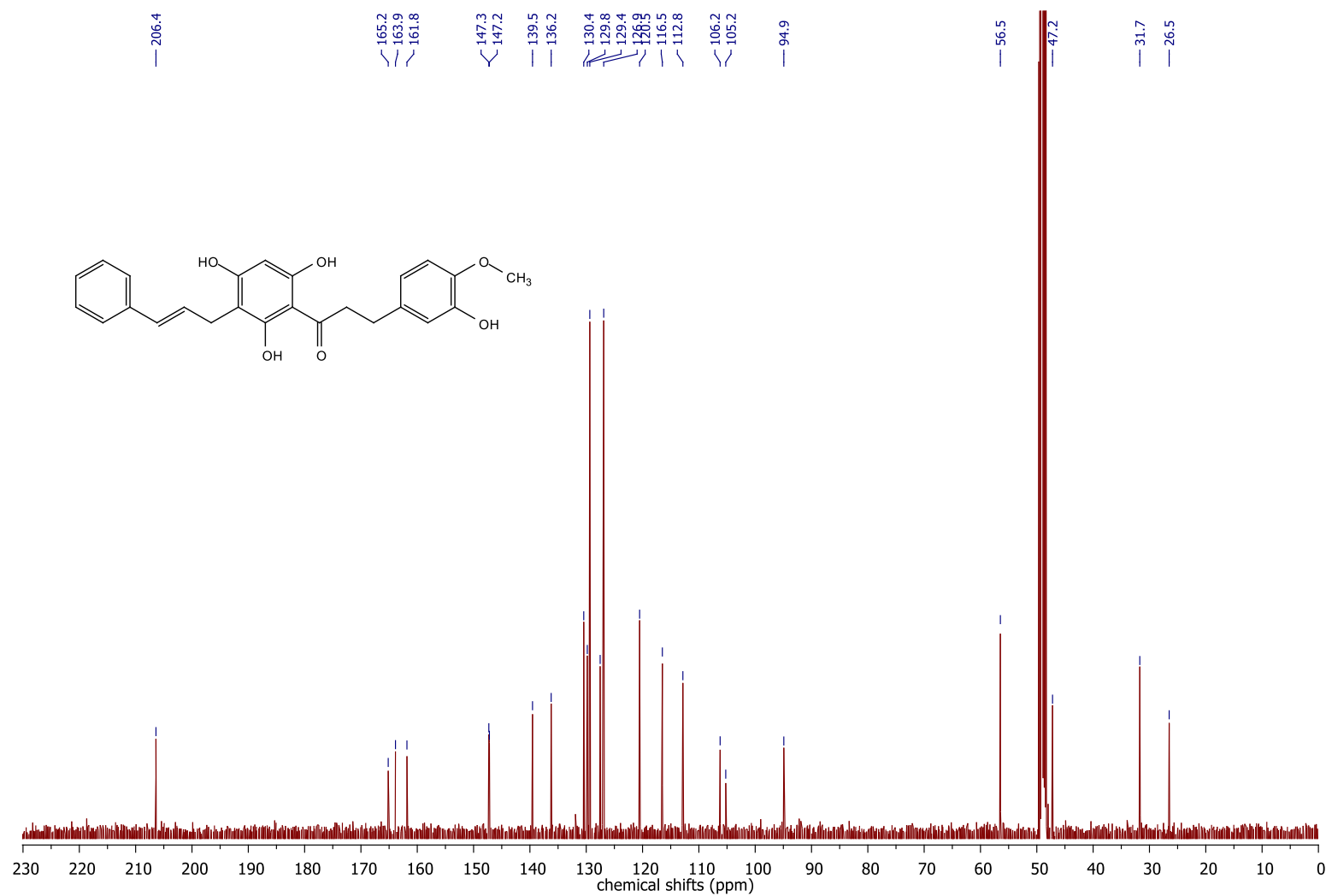
Annexe 2 : Spectre 1H, 400 MHz, MeOD ; composé (39)



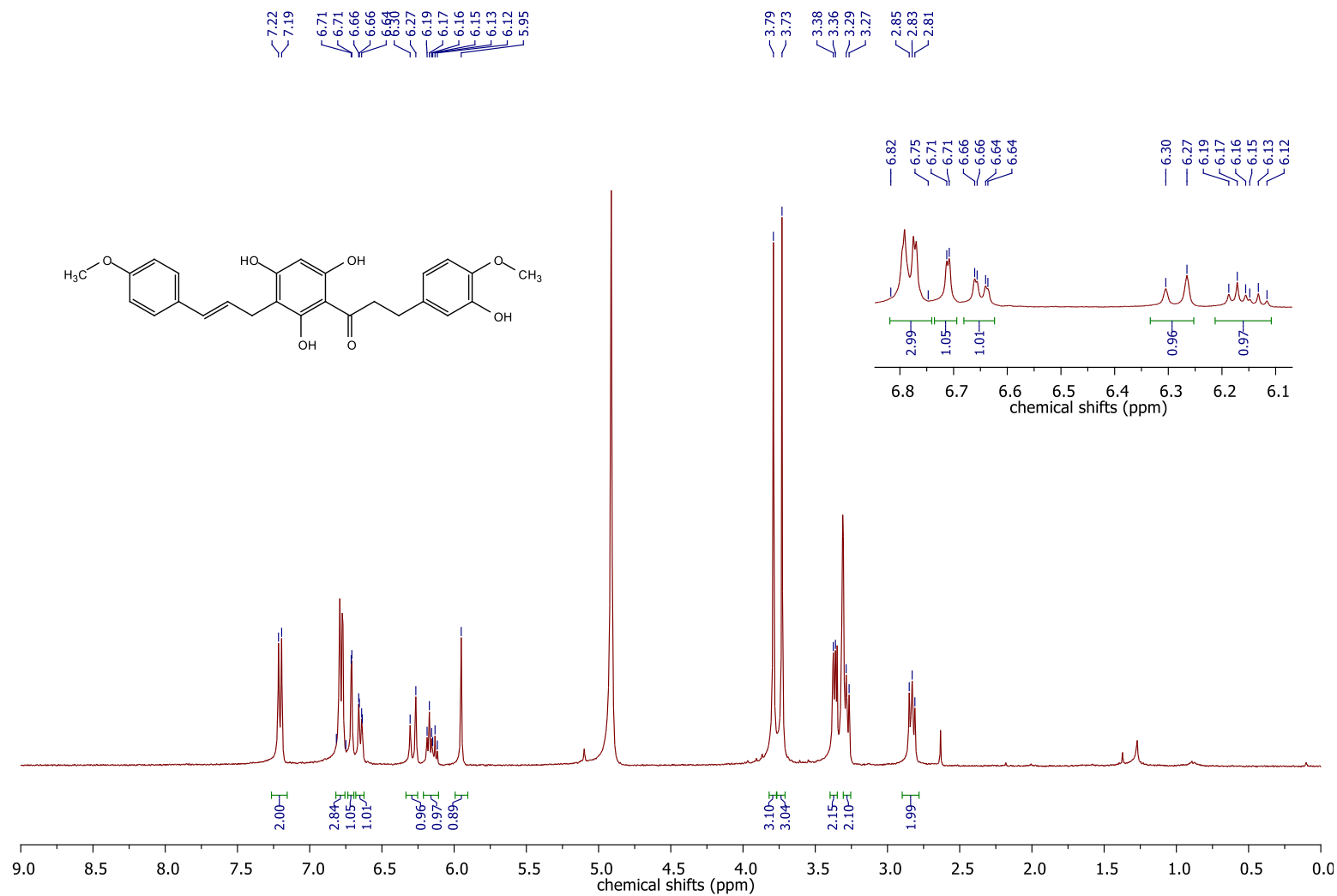
Annexe 3 : Spectre ^{13}C , 101 MHz, MeOD ; composé (39)



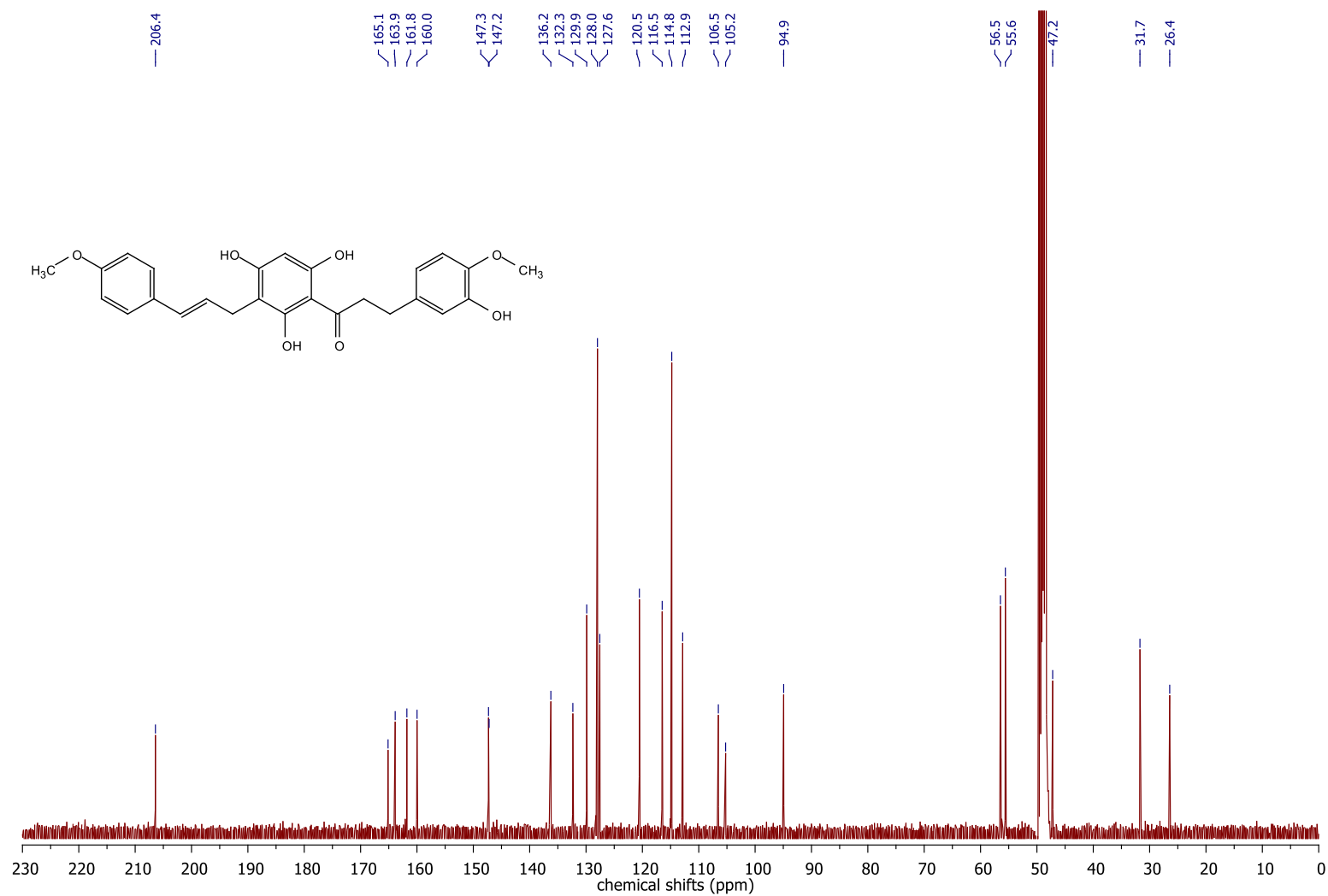
Annexe 4 : Spectre ¹H, 400 MHz, MeOD ; composé (40)



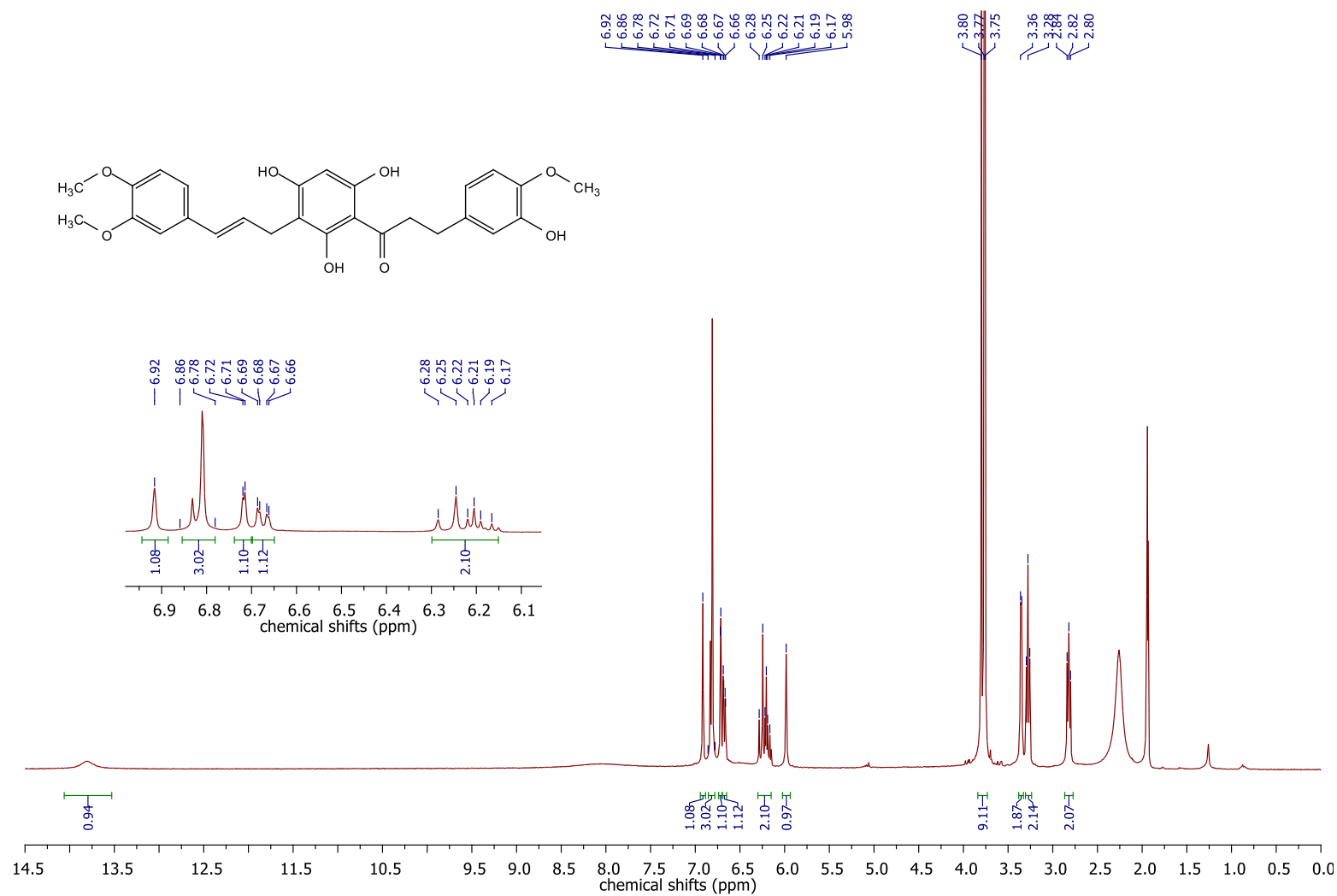
Annexe 5 : Spectre ^{13}C , 101 MHz, MeOD ; composé (40)



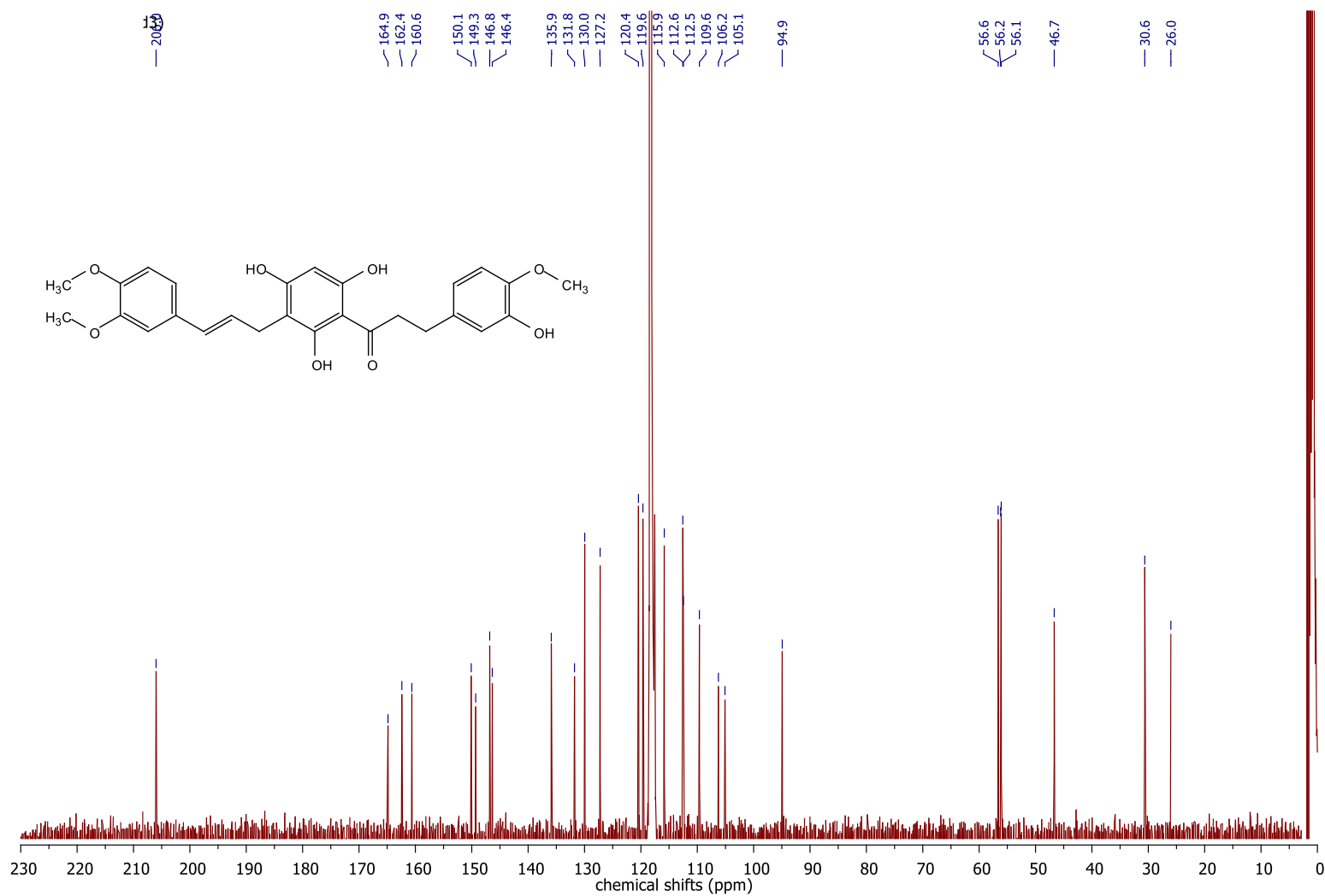
Annexe 6 : Spectre ¹H, 400 MHz, MeOD ; composé (41)



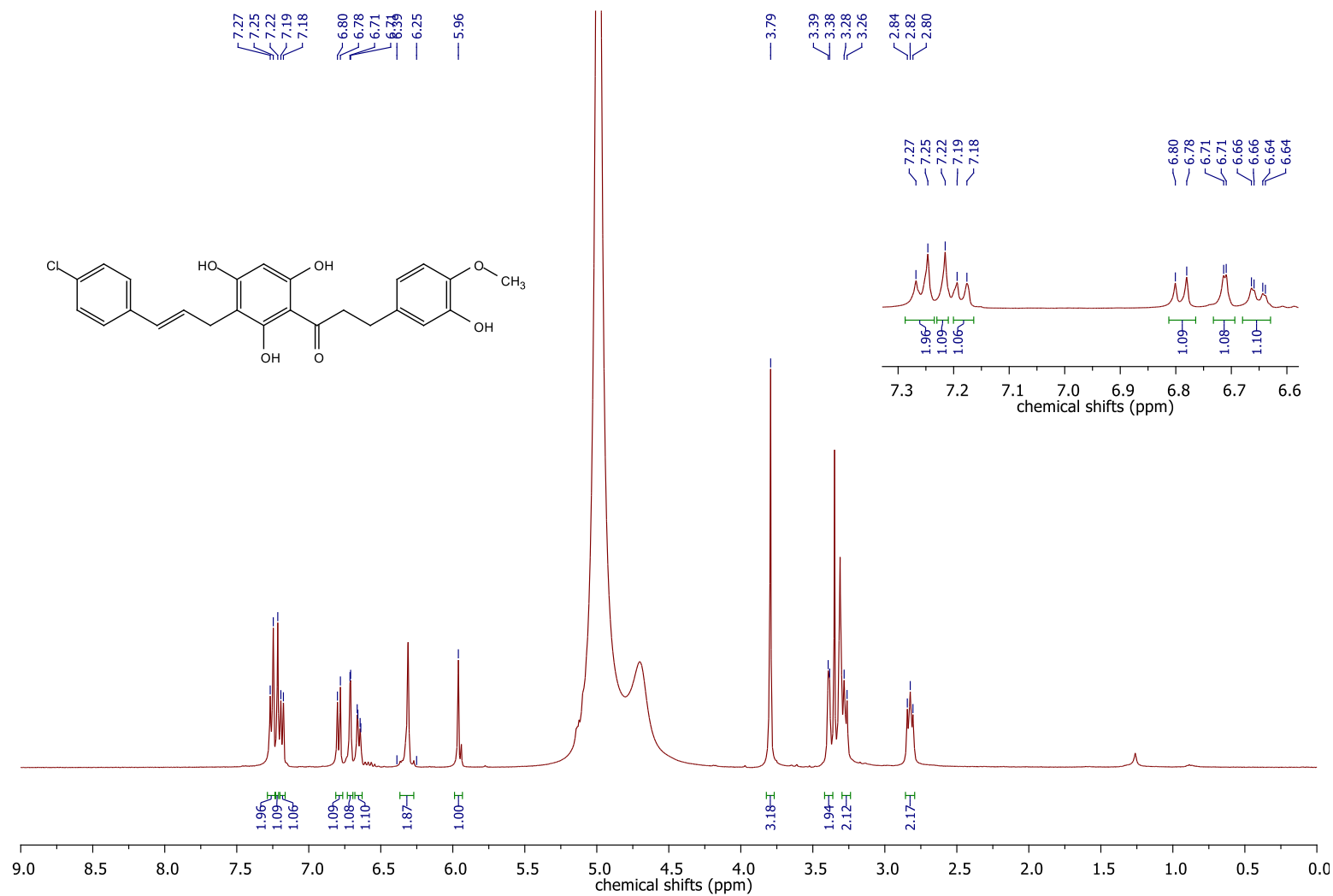
Annexe 7 : Spectre ¹³C, 101 MHz, MeOD ; composé (41)



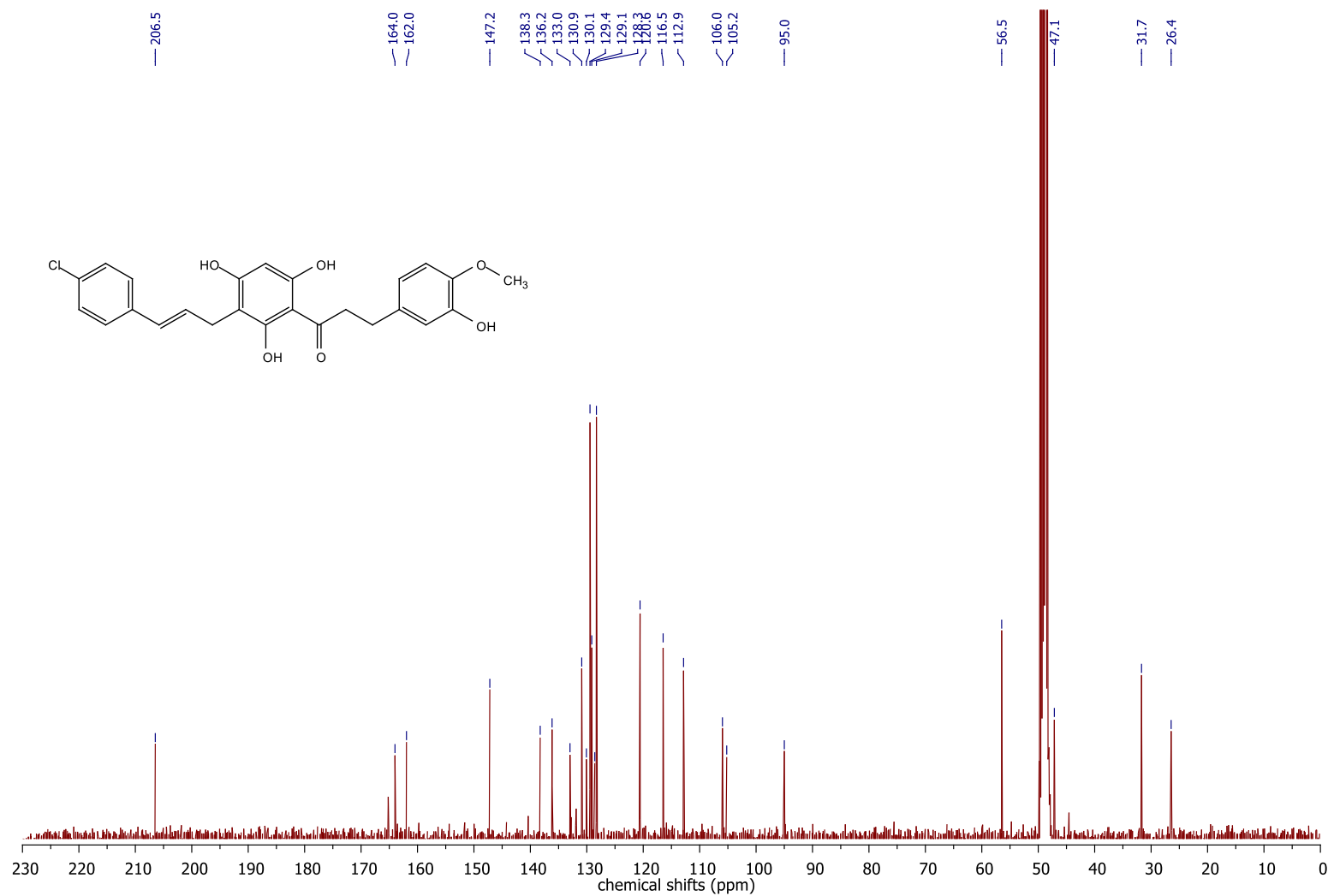
Annexe 8 : Spectre ¹H, 400 MHz, acétonitrile-d₃ ; composé (42)



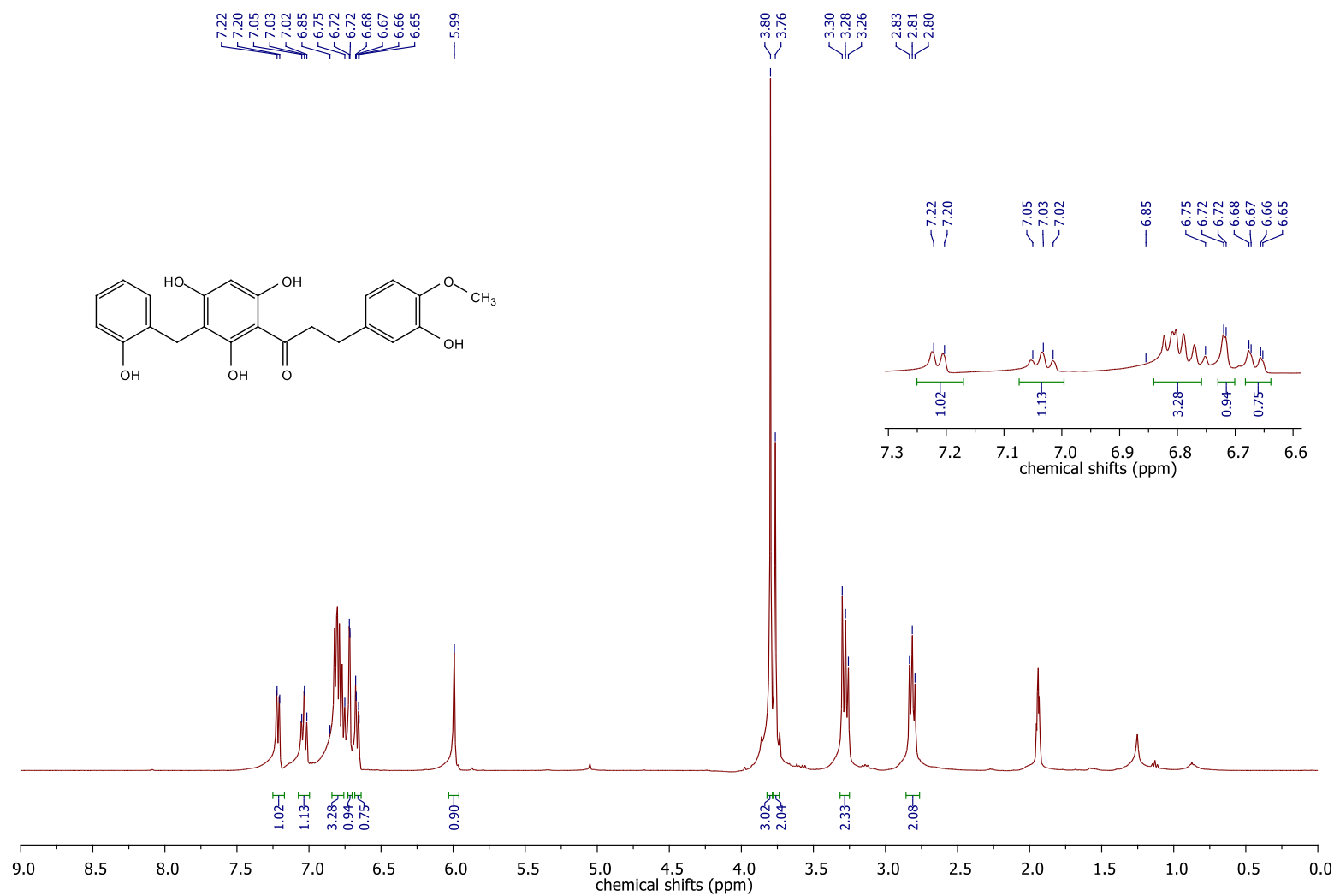
Annexe 9 : Spectre ¹³C, 101 MHz, acétonitrile-d₃ ; composé (42)



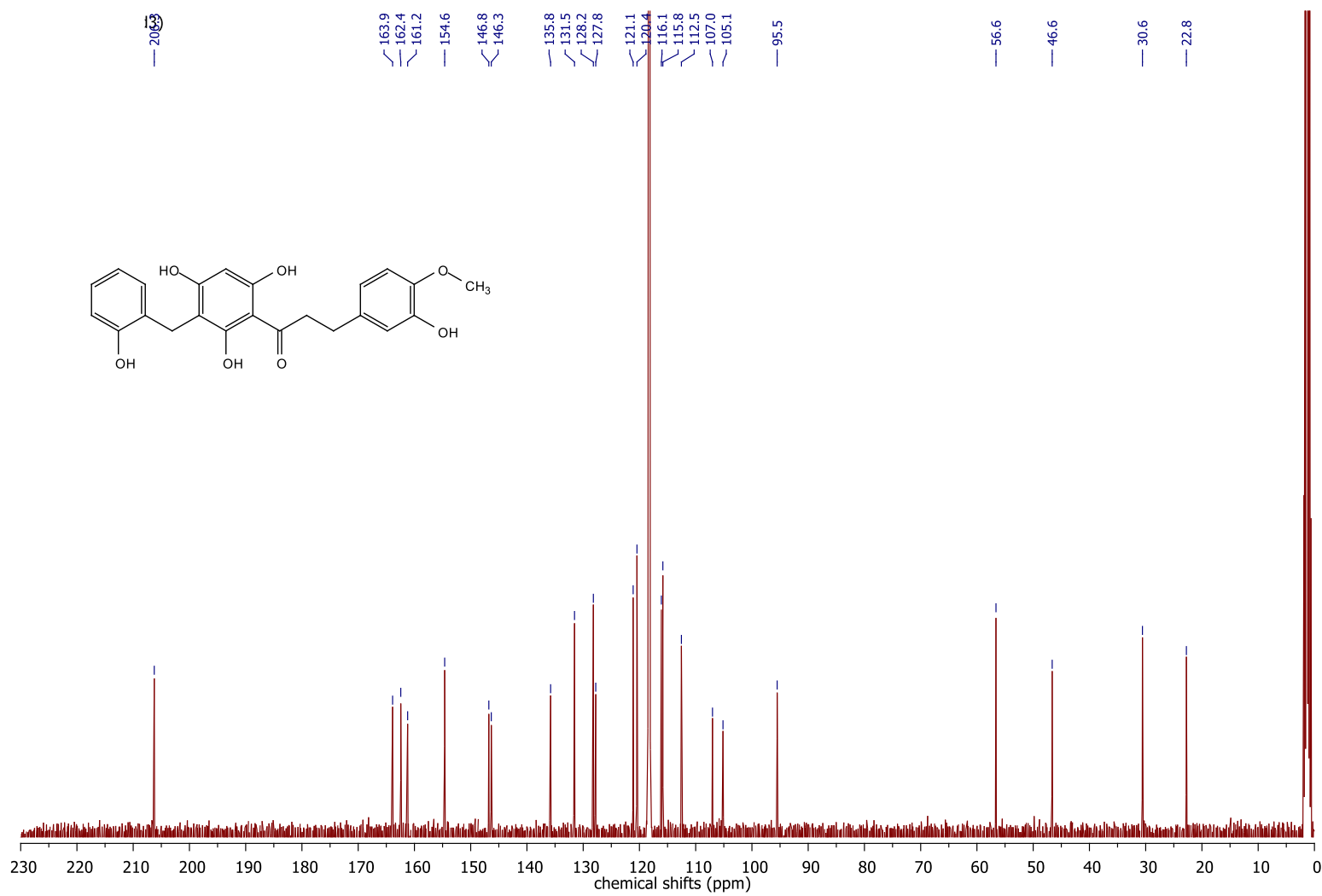
Annexe 10 : Spectre ¹H, 400 MHz, MeOD ; composé (43)



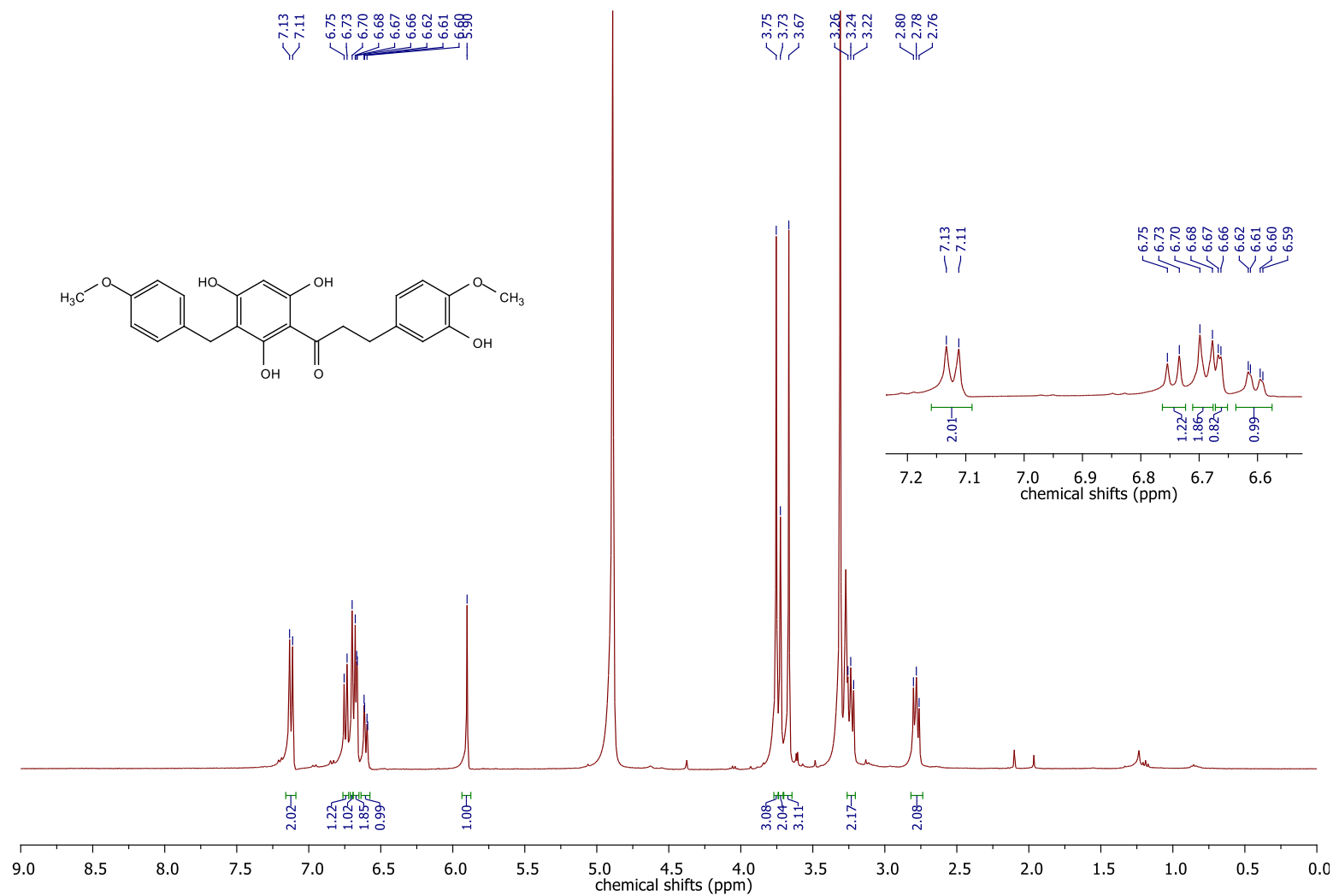
Annexe 11 : Spectre ¹³C, 101 MHz, MeOD ; composé (43)



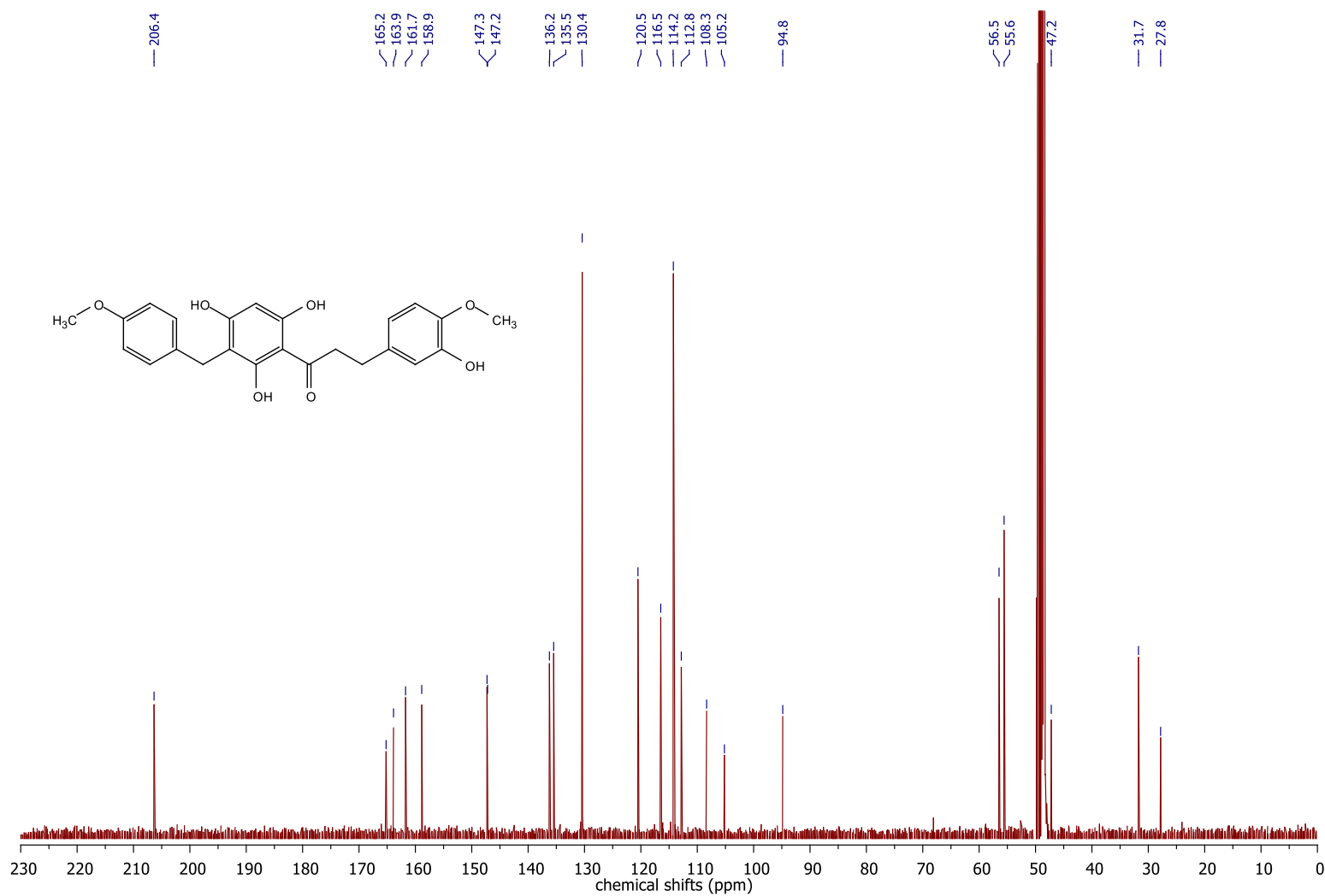
Annexe 12 : Spectre ¹H, 400 MHz, acétonitrile-d₃ ; composé (44)



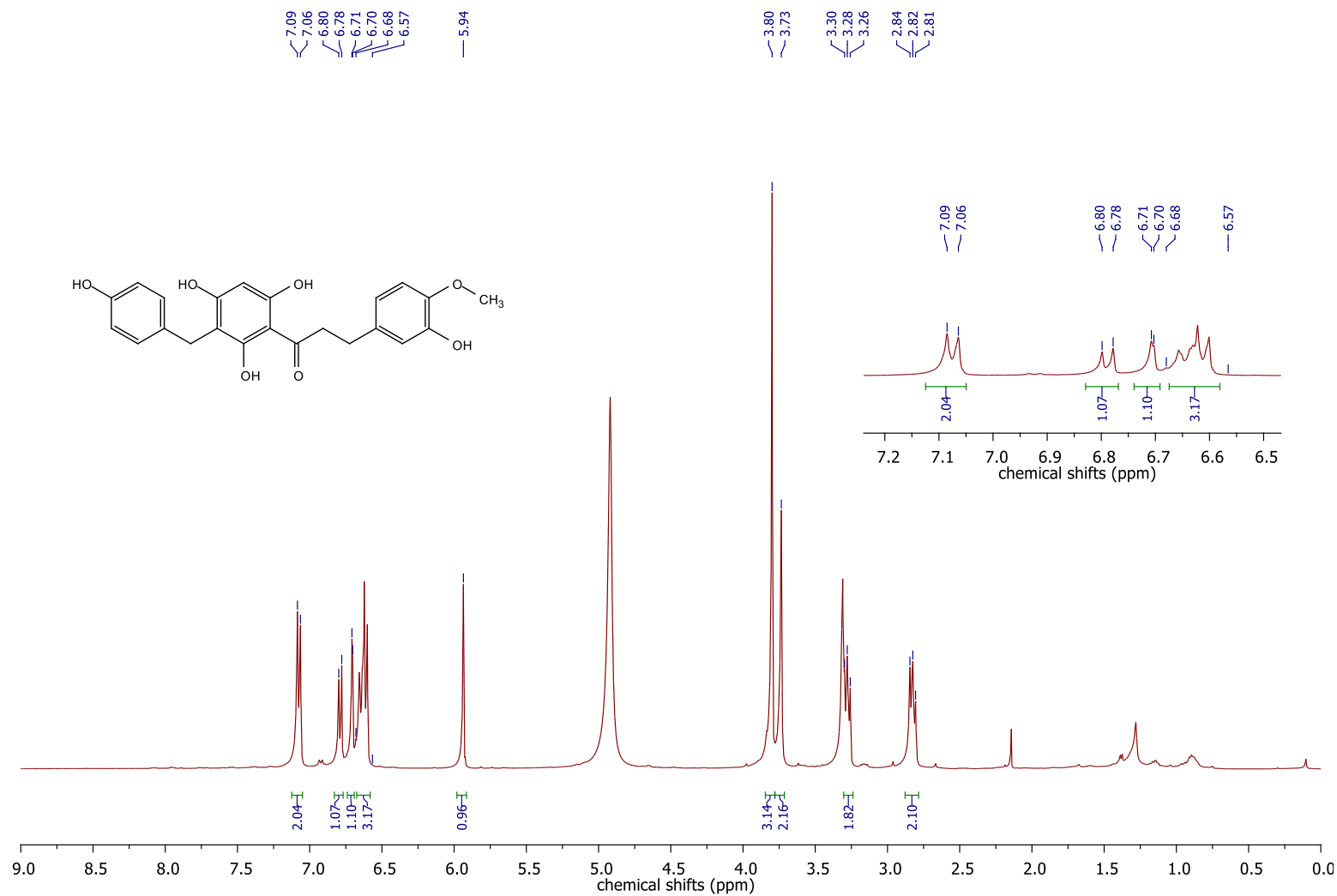
Annexe 13 : Spectre ¹³C, 101 MHz, acétonitrile-d₃ ; composé (44)



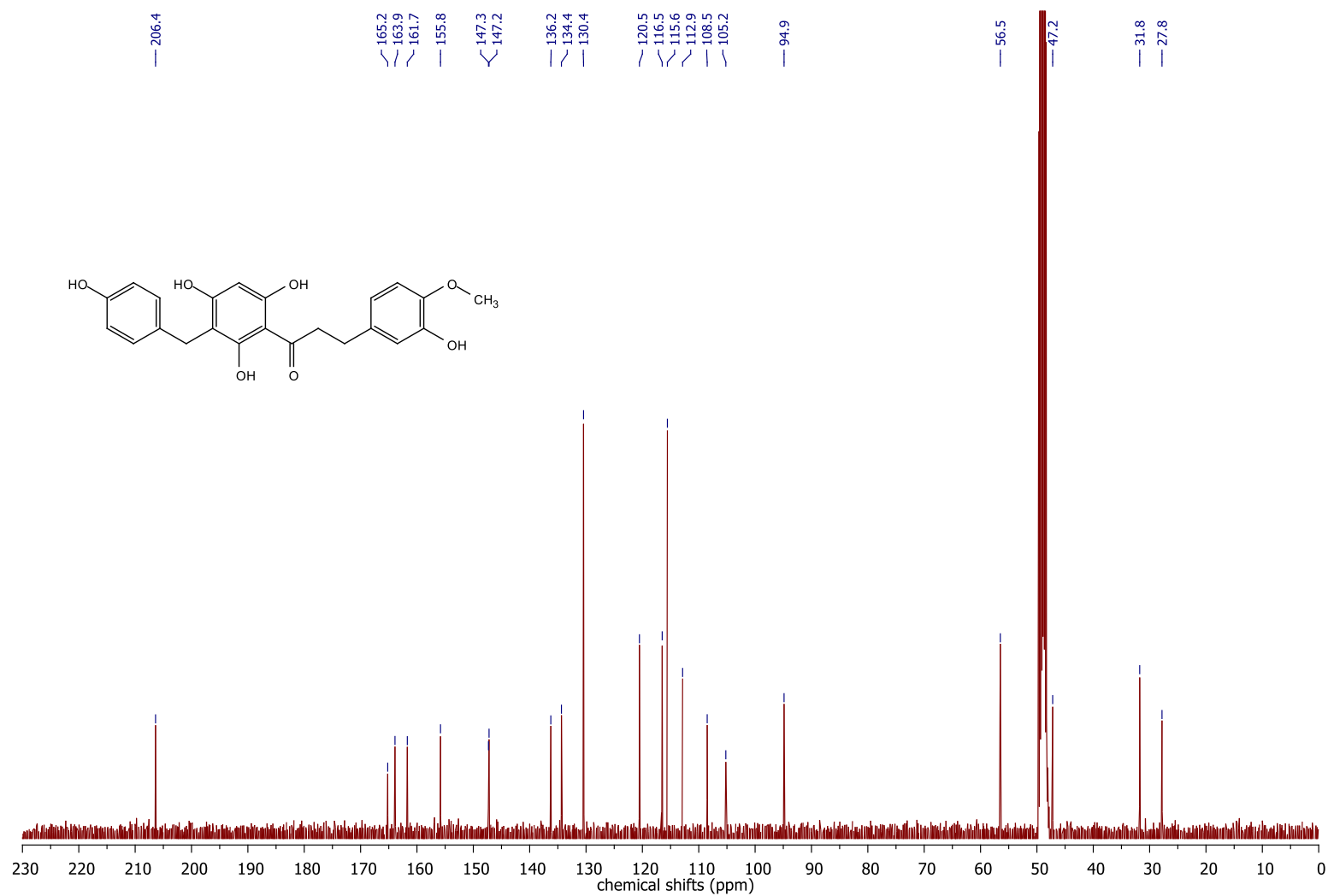
Annexe 14 : Spectre ¹H, 400 MHz, MeOD ; composé (45)



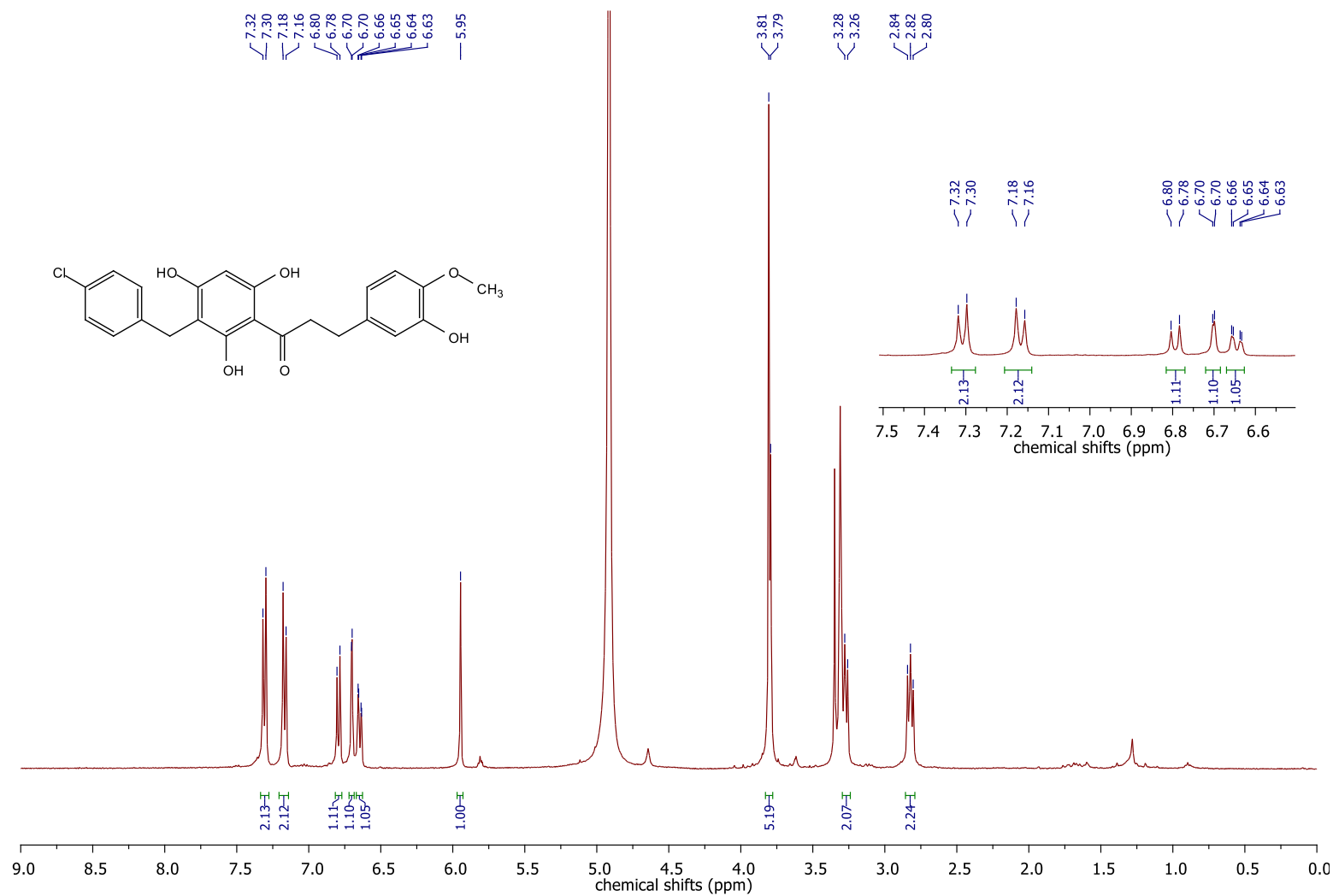
Annexe 15 : Spectre ^{13}C , 101 MHz, MeOD ; composé (45)



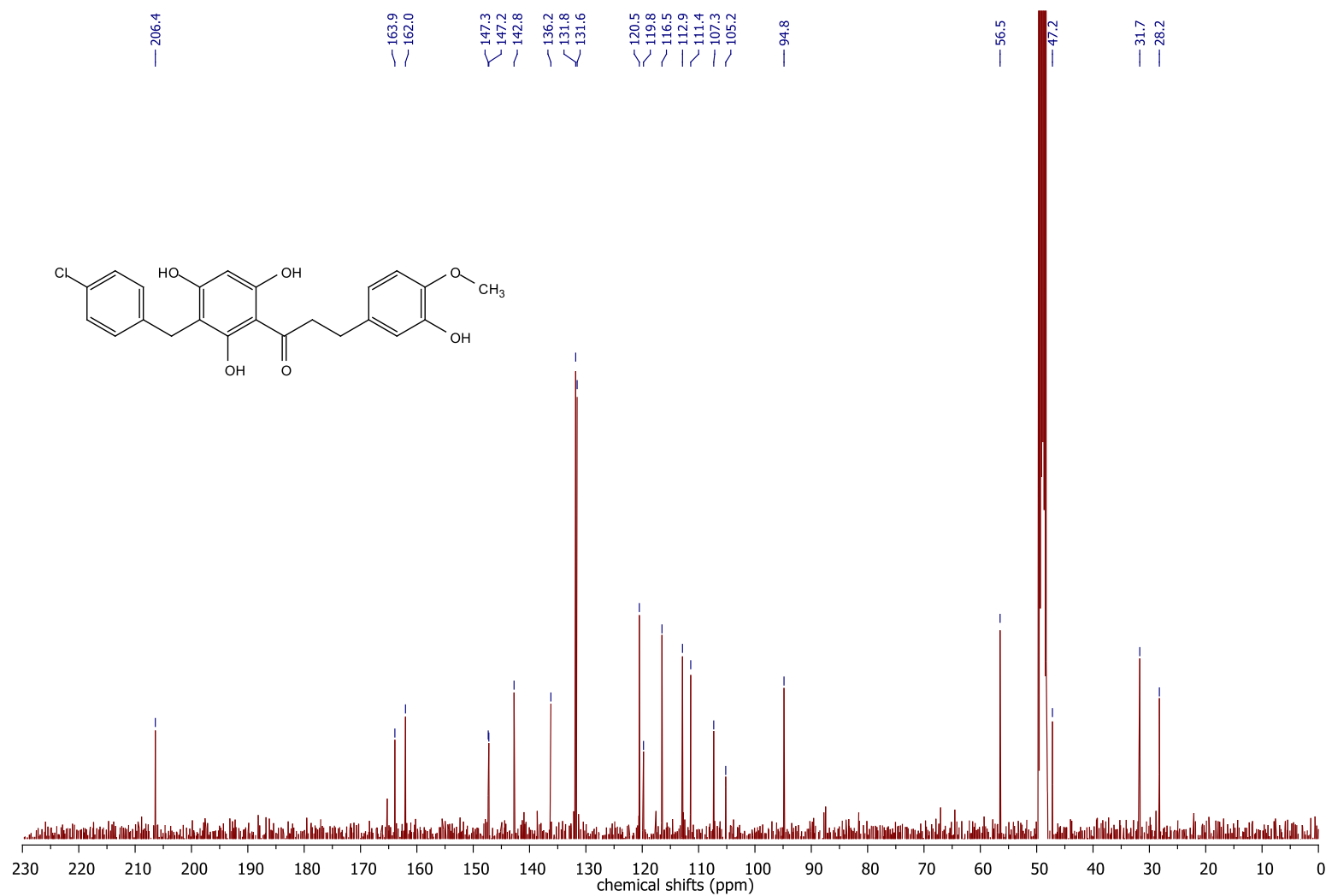
Annexe 16 : Spectre ¹H, 400 MHz, MeOD ; composé (46)



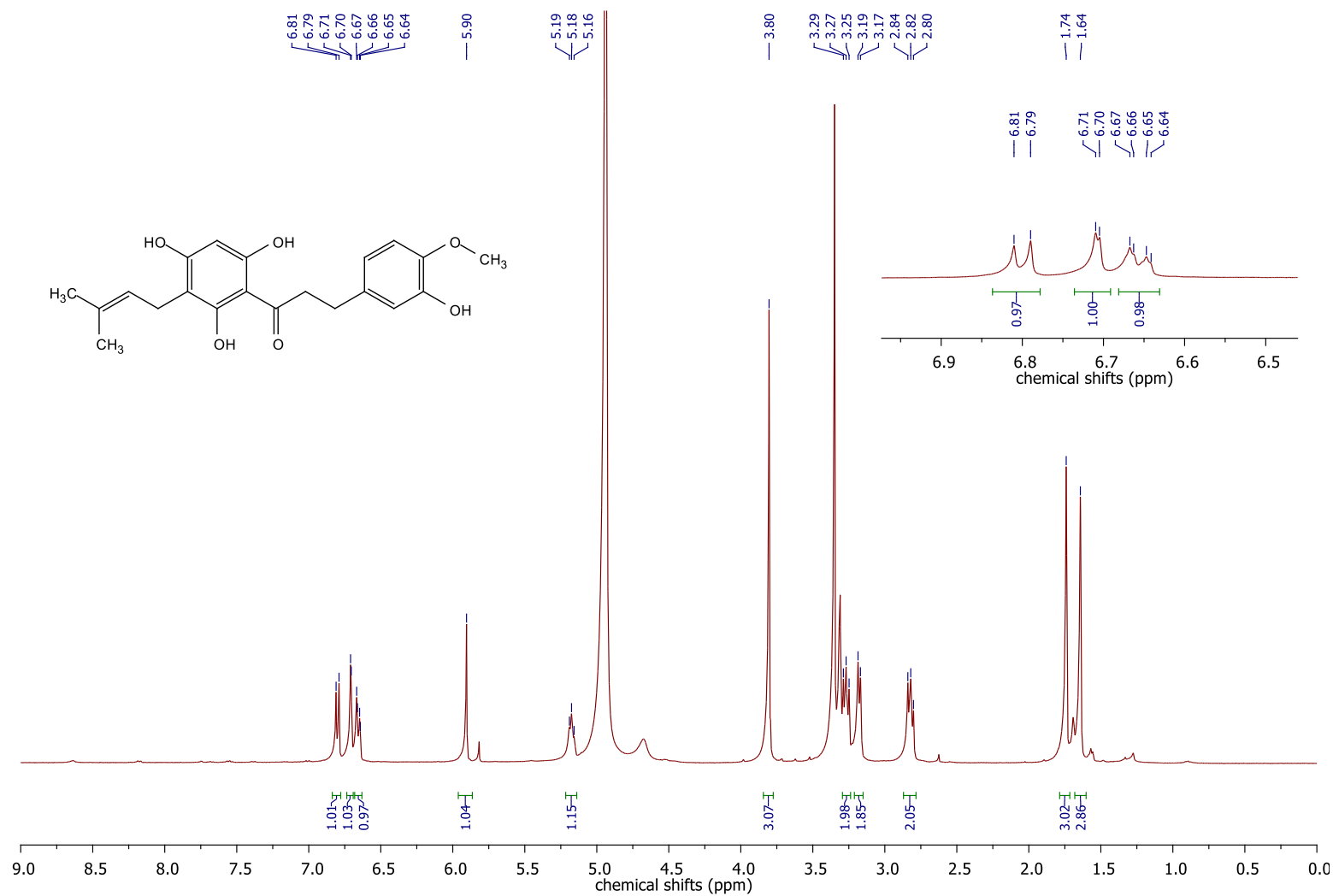
Annexe 17 : Spectre ¹³C, 101 MHz, MeOD ; composé (46)



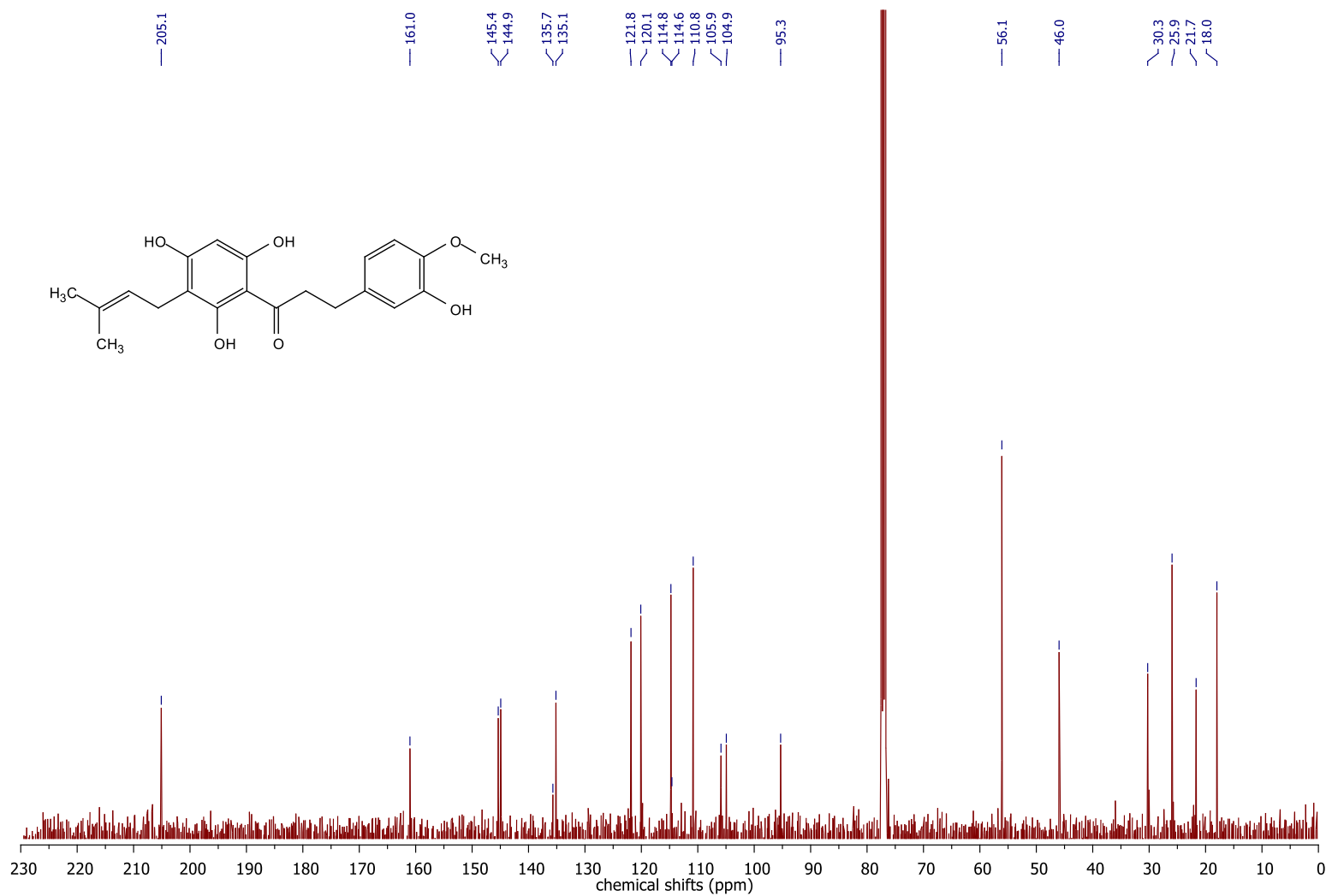
Annexe 18 : Spectre ¹H, 400 MHz, MeOD ; composé (47)



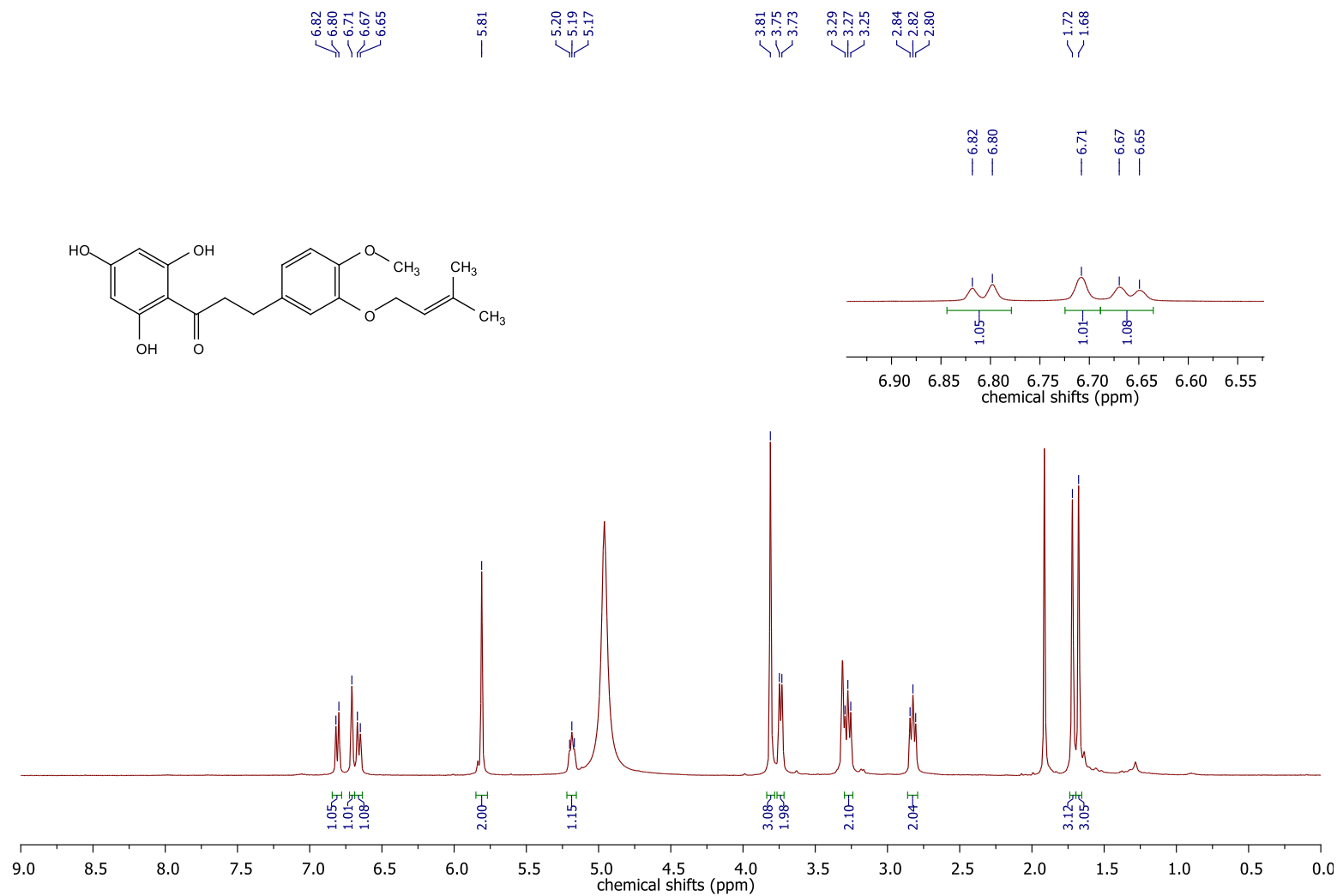
Annexe 19 : Spectre ¹³C, 101 MHz, MeOD ; composé (47)



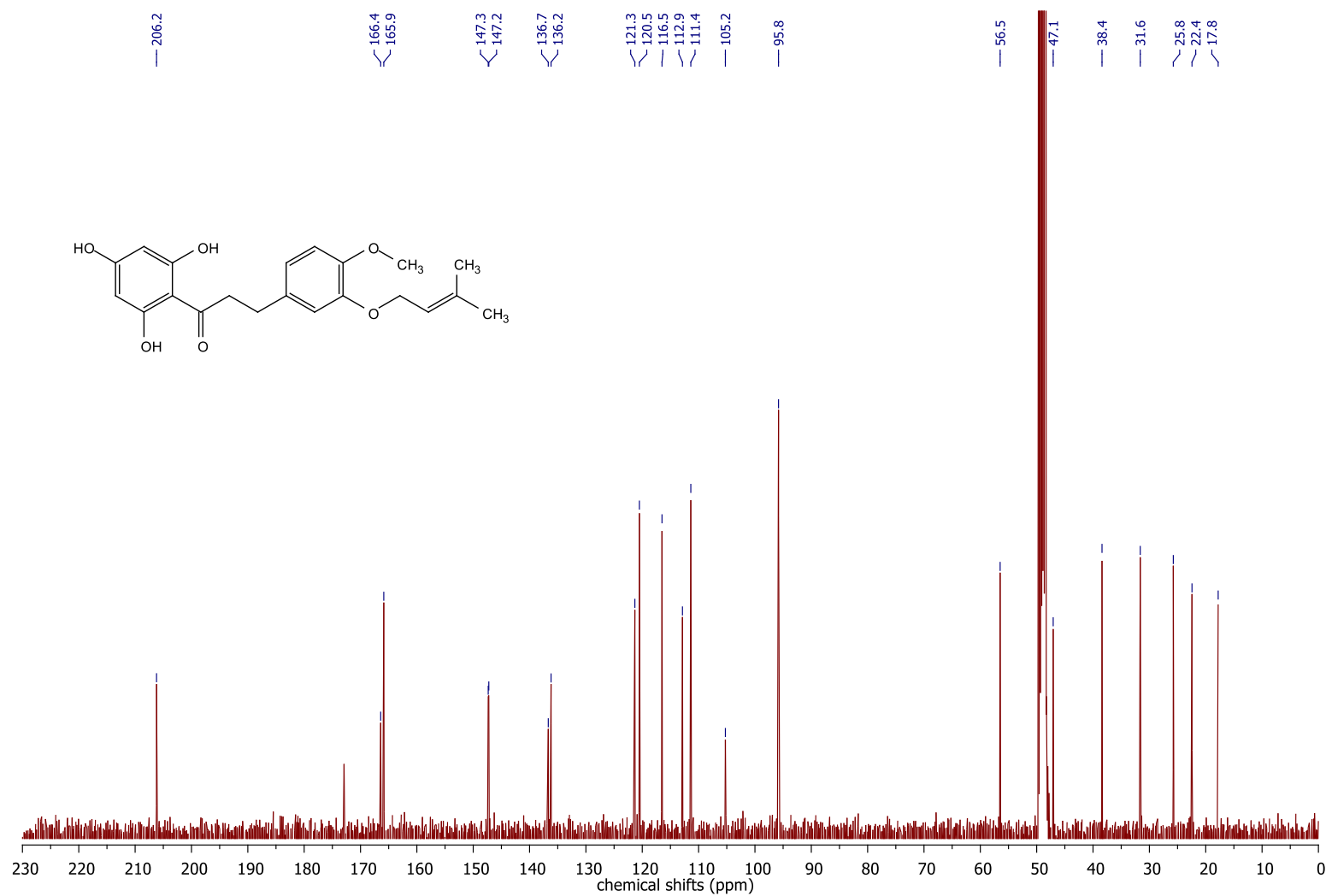
Annexe 20 : Spectre ¹H, 400 MHz, MeOD ; composé (48)



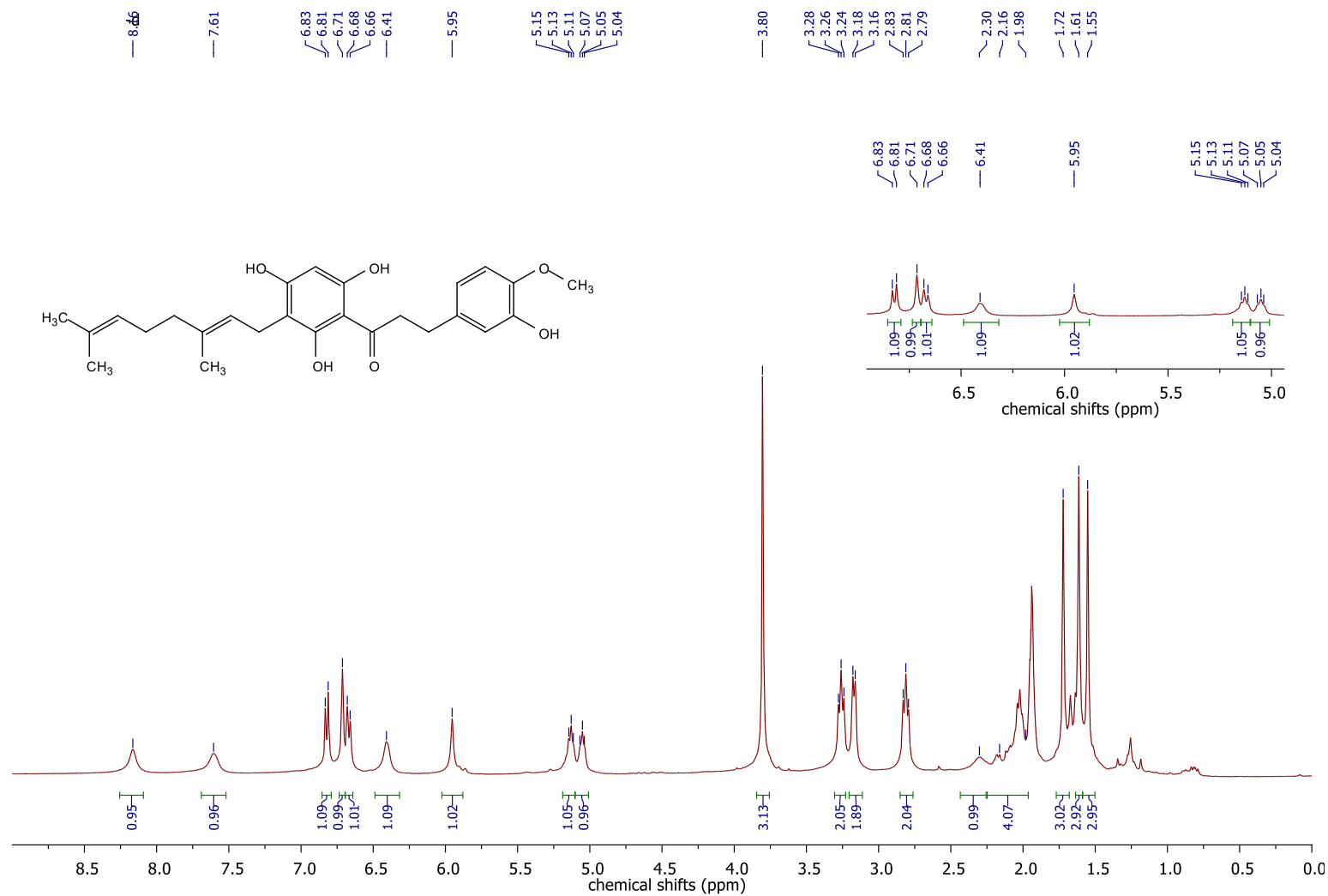
Annexe 21 : Spectre ¹³C, 101 MHz, CDCl₃ ; composé (48)



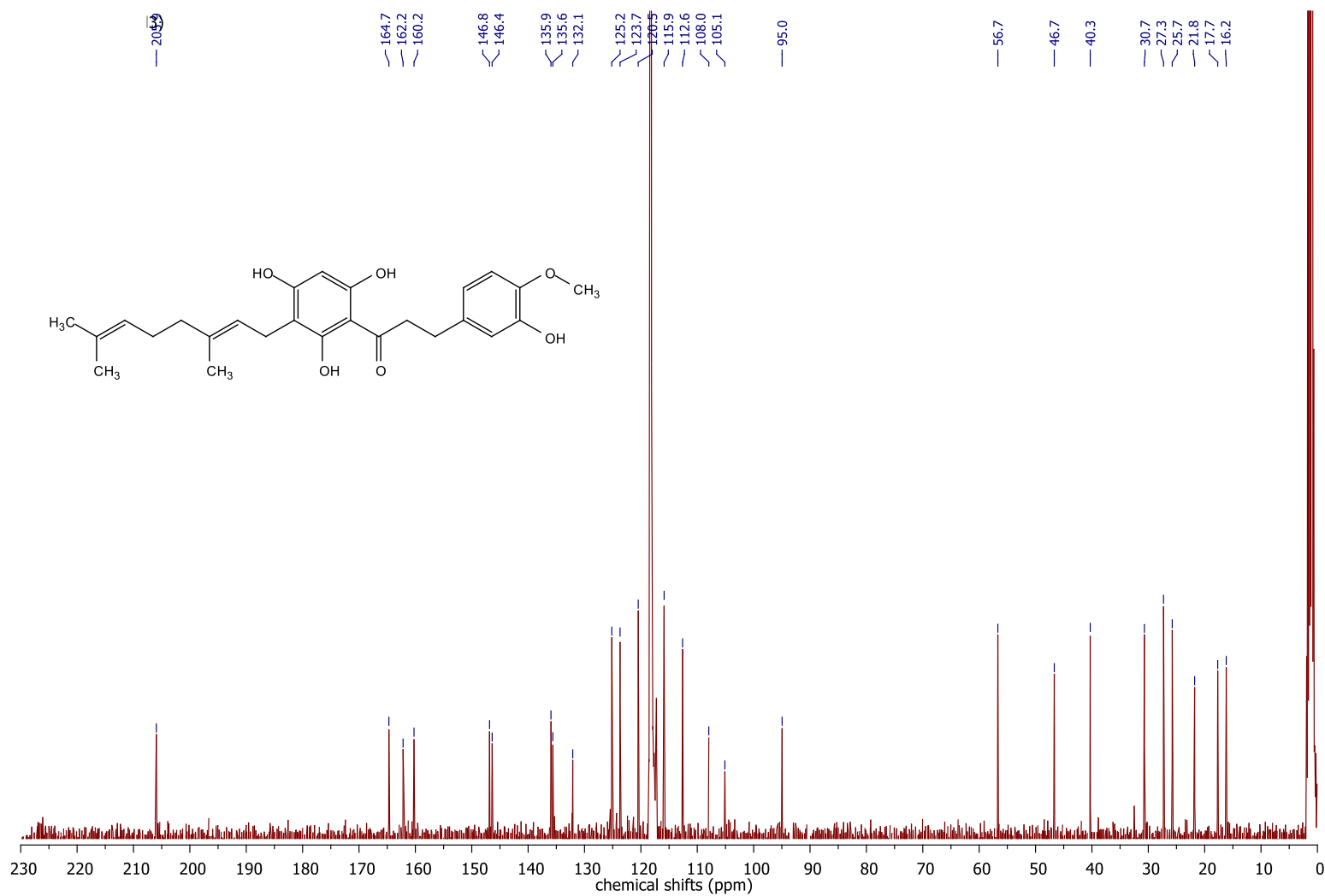
Annexe 22 : Spectre ^1H , 400 MHz, MeOD ; composé **(71)**



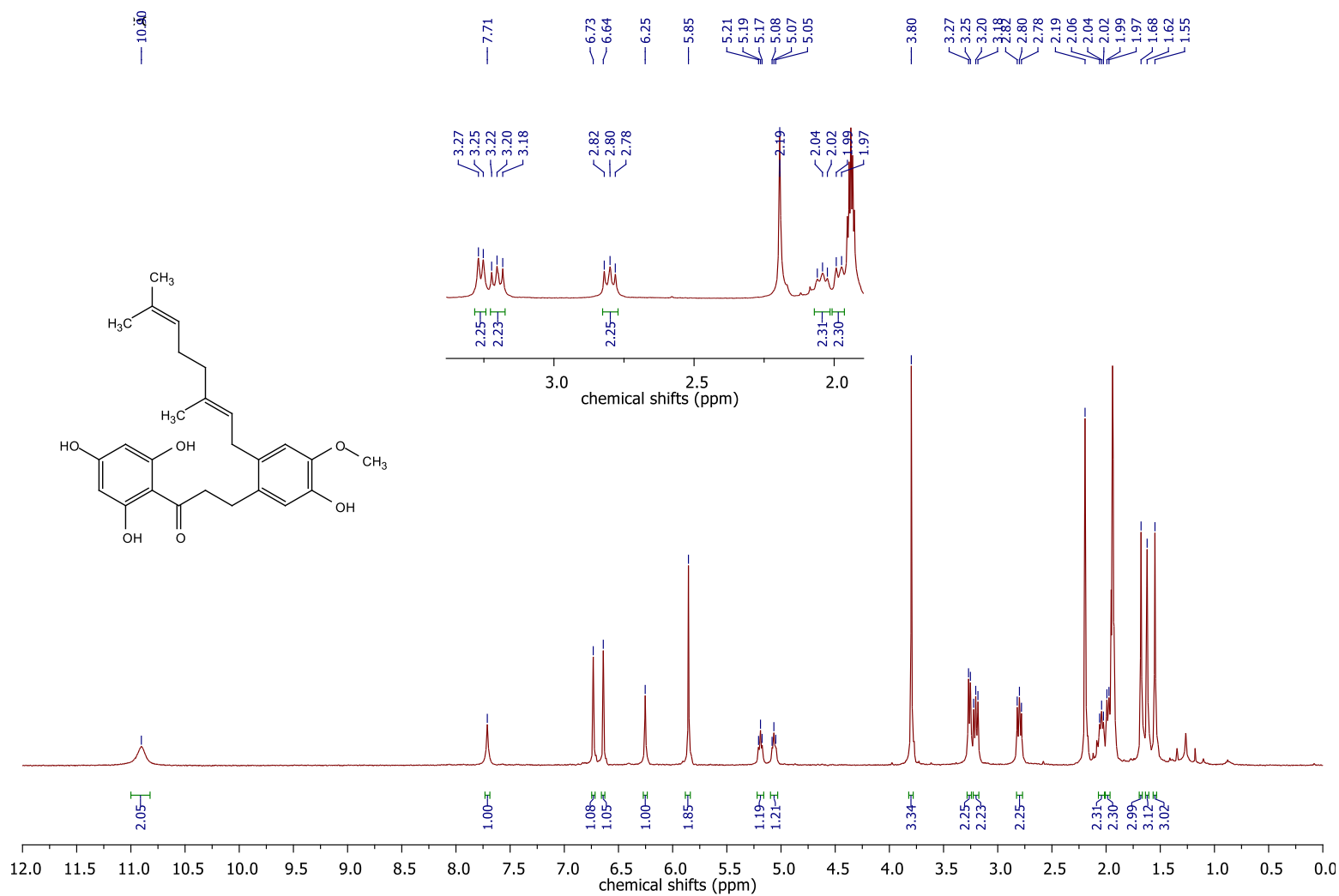
Annexe 23 : Spectre ^{13}C , 101 MHz, CDCl_3 ; composé **(71)**



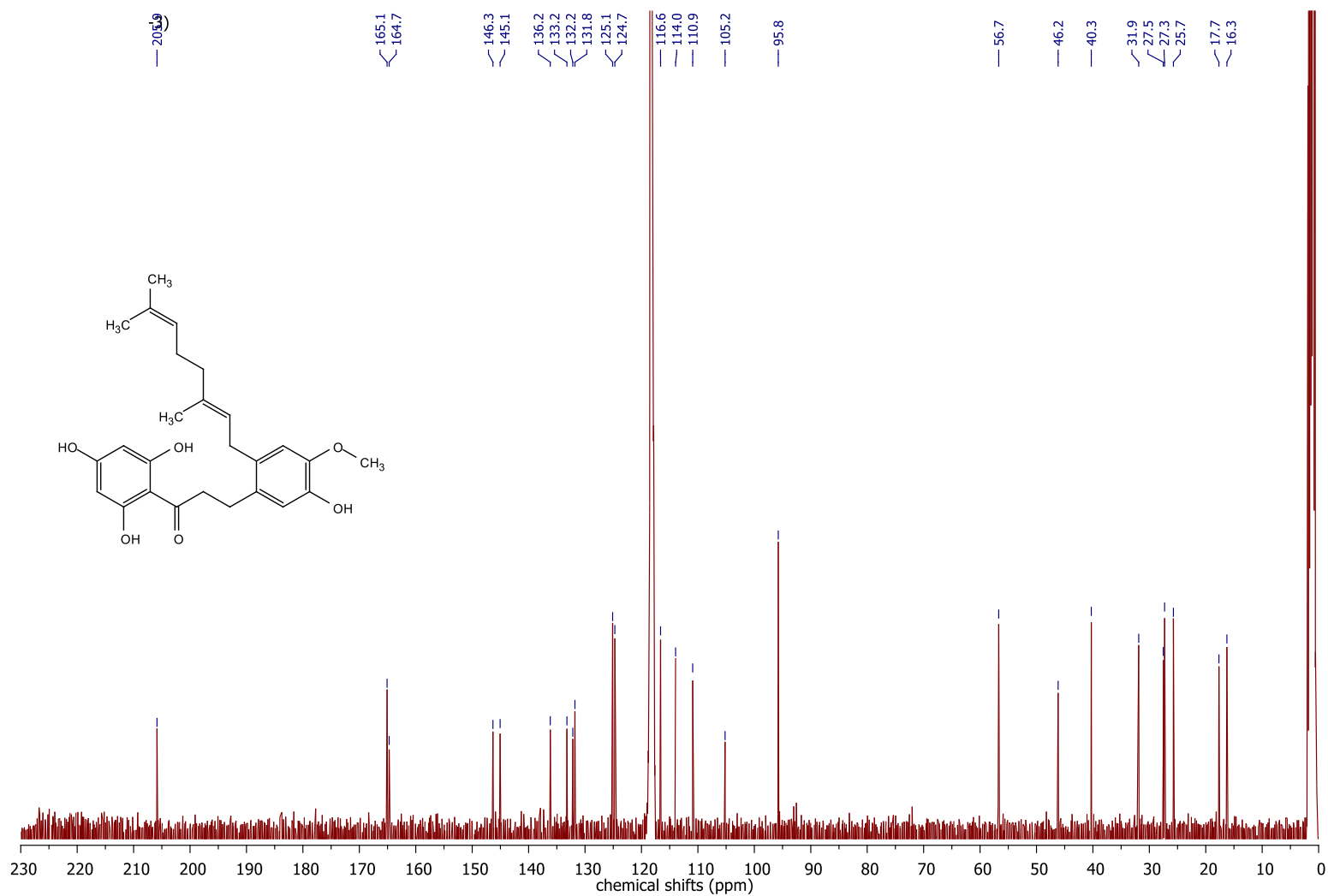
Annexe 24 : Spectre ¹H, 400 MHz, acétonitrile-d₃ ; composé (49)



Annexe 25 : Spectre ¹³C, 101 MHz, CDCl₃ ; composé (49)



Annexe 26 : Spectre ¹H, 400 MHz, acétonitrile-d₃ ; composé (72)



Annexe 27 : Spectre ¹³C, 101 MHz, acétonitrile-d₃ ; composé (72)